ANNALES
DE
L'AMÉLIORATION
DES
PLANTES

VOLUME 15
1965

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle - PARIS-7e

ANNALES
DE
L'AMÉLIORATION
DES
PLANTES

VOLUME 15 1965 NUMÉRO 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle - PARIS-7e

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs et de l'Institut national de la Recherche agronomique à l'exception des sommaires et résumés.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 5-21.

RECHERCHES PRÉLIMINAIRES SUR ORGE POUR UNE TENTATIVE D'AMÉLIORATION DES TRAITEMENTS PAR LA COLCHICINE

S. ESSAD et H. CACHON

Station centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

En introduction à une analyse des différents facteurs susceptibles d'influer sur l'efficacité des traitements polyploïdisants, cet article présente et discute les techniques de traitement, les méthodes d'analyse et les résultats d'une expérimentation préliminaire d'ensemble.

INTRODUCTION

Si l'action polyploïdisante de la colchicine est connue depuis 1937 (BLAKESLEE, BLAKESLEE et AVERY, NEBEL, NEBEL et RUTTLE) son utilisation demeure très aléatoire et l'obtention de plantes tétraploïdes nécessite une sélection fréquemment délicate, longue et dispendieuse.

Les travaux portant sur l'action de la colchicine ou des agents mitoclasiques en général (voir notamment l'importante mise au point, réalisée par EIGSTI et DUSTIN 1955) peuvent en effet être répartis en deux groupes.

Le premier groupe rassemble les travaux de cytologistes ou toxicologistes « purs » qui se limitent à l'analyse du comportement caryocinétique de méristèmes placés en contact permanent avec les solutions mitoclasiques. Le devenir ploïdique de ces méristèmes présente d'ailleurs d'autant moins d'intérêt qu'il s'agit toujours de méristèmes radiculaires. Dans ce groupe on peut citer les travaux remarquables de DEYSSON (1952 entre autres) et GAVAUDAN (1945).

Le deuxième groupe rassemble les travaux de sélectionneurs et de cytogénéticiens pour qui la mise au point d'une technique de polyploïdisation réellement efficace présenterait un intérêt considérable. Mais l'ampleur du travail qu'implique

une telle recherche les a conduit à limiter leur activité en ce domaine à la comparaison superficielle de quelques variantes autour de conditions qui leur paraissaient favorables sans pousser très loin l'analyse des résultats.

L'absence d'uniformité des conditions de traitement, des caractéristiques du matériel végétal utilisé et aussi l'absence de détails concernant l'analyse des résultats, rendent irréalisable une comparaison constructive des divers travaux publiés. Des tentatives à cet égard ont cependant été publiées, telle la mise au point de KRYTHE et WELLENSIEK (1942) et, plus récemment, l'article de EIGSTI (1957) où l'auteur, d'après l'ensemble des travaux publiés, recommande la concentration 200.10^{-5} et des durées d'immersion de 48 heures.

Les traitements colchiciniques, quelles que soient leur modalités d'application, font apparaître une mortalité généralement importante concurremment avec la persistance de plantes morphologiquement indemnes. Parmi les individus déformés par l'action toxique de l'alcaloïde, certains restent diploïdes, d'autres sont des mixoploïdes à des degrés divers, les tétraploïdes complets demeurant exceptionnels. La nécessité de traiter, au départ d'un tel travail, un grand nombre de plantes, apparaît donc de façon évidente. Malheureusement ce n'est pas toujours possible et le problème peut être difficile à résoudre dans le cas extrême d'hybrides interspécifiques annuels difficiles à obtenir. Et même lorsqu'il n'existe aucune limitation de matériel, l'allogamie d'une part et les difficultés de dépistage des tétraploïdes d'autre part, augmentent considérablement le travail nécessaire à la création de souches 4n.

C'est en tenant compte de ces quelques considérations qu'à été entreprise l'étude successive des différents problèmes posés par le doublement chromosomique. Et avant toute chose il était nécessaire de mettre au point une méthode qui puisse être utilisée ultérieurement comme référence et qui fait l'objet du présent mémoire.

A. — LES BUTS POURSUIVIS

Utilisant :

1° un matériel de manipulation aisée,

2° un traitement aisément contrôlable et agissant de façon aussi homogène que possible sur l'ensemble des plantes,

3° une température de traitement déterminée pour pouvoir réaliser toutes les opérations en température constante sans avoir à recourir à une installation spéciale et correspondant de plus à la croissance optimum de l'espèce utilisée,

nous voulions déterminer :

1° les concentrations en colchicine les plus satisfaisantes sur la base des réactions morphologiques des plantes traitées,

2° la réaction cytologique des plantes traitées à ces différentes concentrations,

3° le taux de descendants polyploïdes induits par ces différentesc oncentrations,

4° La liaison existant entre le syndrome colchicinique apparent et la réaction ploïdique effective.

B. — CHOIX D'UN MATÉRIEL ET D'UNE TECHNIQUE DE TRAITEMENT

La recherche d'un matériel végétal diploïde, autogame, d'un doublement chromosomique relativement facile nous a tout naturellement conduit à l'*orge*. Nous avions de plus la possibité de choisir une orge *de printemps*, ce qui supprime un certain nombre d'aléas, *nue* pour éviter un travail de décortiquage. Nous avons donc adopté une variété fixée, obtenue à Versailles sous le nom de *KTR 14* (issue de *Kénia Tyroler Nakte × Rika*).

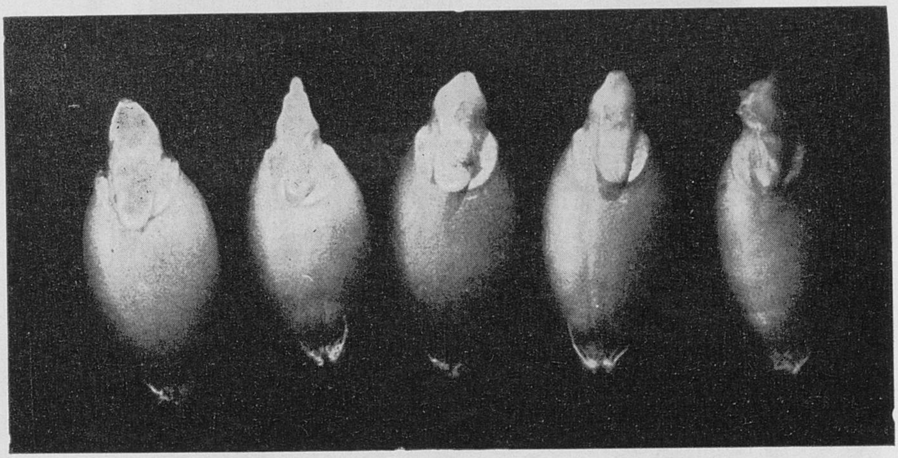


FIG. 1. — *Stade de traitement des grains*

La température utilisée dans l'ensemble du travail est de 21° C.

Le traitement par immersion de graines germées depuis 24 h avec racines séminales apparaissant sous la coléorhize et coléoptile dégagée du péricarpe nous a paru présenter les meilleures conditions d'homogénéité (fig 1).

C. — CARACTÉRISATION DU SYNDROME COLCHICINIQUE

La recherche d'un caractère simple permettant d'objectiver la réaction des plantes à l'action toxique de la colchicine a un double but :

1° Préciser, sur un plan purement morphologique, l'intensité d'action des traitements effectués,

2° Permettre d'établir le rapport exact entre l'importance de ce syndrome et l'efficacité réelle du traitement.

On peut tout d'abord observer que, dans nos conditions de traitements, le limbe de la première feuille est toujours très fortement raccourci, celui de la deuxième l'est à un degré moindre et celui de la troisième présente une variation importante qui se situe entre quelques millimètres et plus de 250 mm, les témoins se situant vers 240 mm avec des minima exceptionnels de 180 à 190 mm. La sensibilité du témoignage de la troisième feuille s'explique par la position et l'état de développement de celle-ci au moment du traitement (fig. 2).

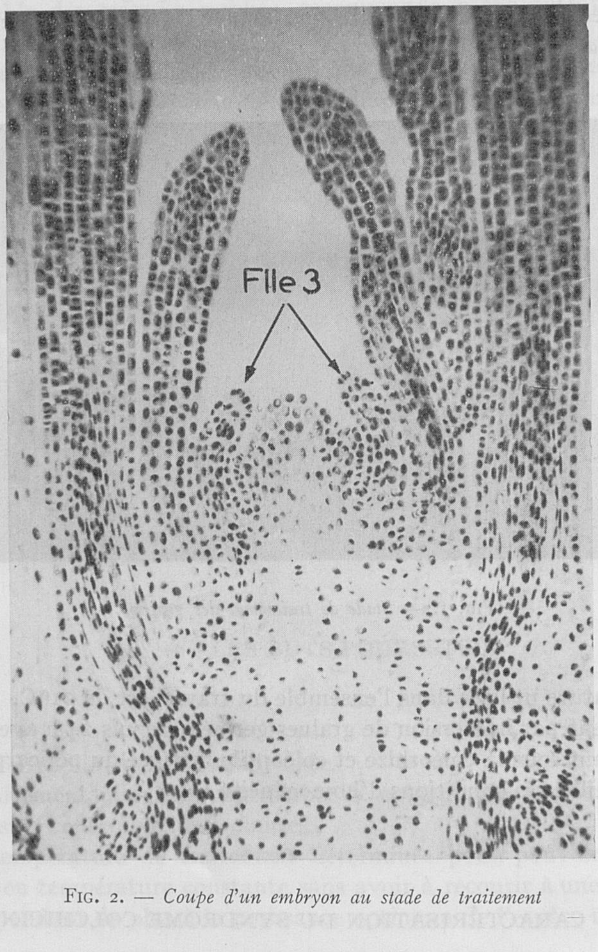


FIG. 2. — *Coupe d'un embryon au stade de traitement*

Sur la base d'un classement préalable effectué en quatre classes d'après l'aspect général des plantules traitées nous avons établi les catégories suivantes (fig. 3) :

Catégorie I	— Limbe de 3e feuille	⩾ 190 mm
—	II	⩾ 110 mm
—	III	⩾ 50 mm
—	IV	< 50 mm



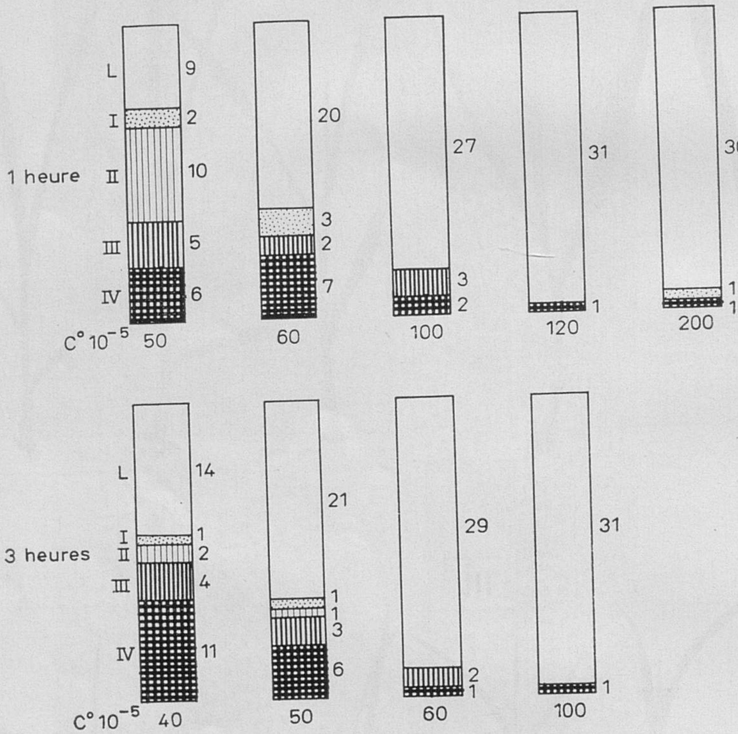
FIG. 3. — *Les catégories établies pour caractériser l'importance du syndrome colchicinique (28 jours après le traitement)*

D. — RÉACTIONS MORPHOLOGIQUES AUX TRAITEMENTS

L'utilisation des différentes catégories ainsi définies du syndrome colchicinique peut permettre l'analyse des résultats obtenus pour des concentrations différentes et différentes modalités du traitement.

TABLEAU I

Action de deux durées d'immersion et de diverses concentrations sur la mortalité et l'importance du syndrome colchicinique dans les échantillons traités (32 plantes par échantillon). Pour chaque traitement sont indiqués les nombres de plantes (chiffres arabes) pour chaque catégorie du syndrome colchicinique (chiffres romains). L = plantes létales.
Colchicine " A ", traitement sous pression atmosphérique normale.



Le tableau 1 met tout d'abord en évidence une influence très nette de la concentration et de la durée du traitement sur la mortalité. Aux concentrations 50 à 100.10^{-5} qui correspondent ici à la gamme élevée des concentrations utiles, les effets de variations très faibles de concentrations sont extrêmement nets et la variation des réponses à une concentration déterminée extrêmement faible (tabl. 2). Par contre, les concentrations supérieures à un certain seuil n'ont plus d'effet différentiel et on peut même y retrouver des plantes n'ayant pas souffert du traitement (N 1^h 200).

Le tableau 2, établi sur des traitements de 2 h met tout d'abord en évidence, par comparaison avec le tableau 1, l'influence de la source de colchicine. Celle que nous avons utilisée ici (Colchicine B) étant environ deux fois plus toxique sinon

TABLEAU 2

Action de quatre concentrations de colchicine (colchicine " B ") pour un traitement de 2 heures sous pression atmosphérique normale.
Comparer avec l'action de la colchicine " A " (tableau 1).
V P A = Valeur polyploïdisante approchée ; explication dans le texte page 13.

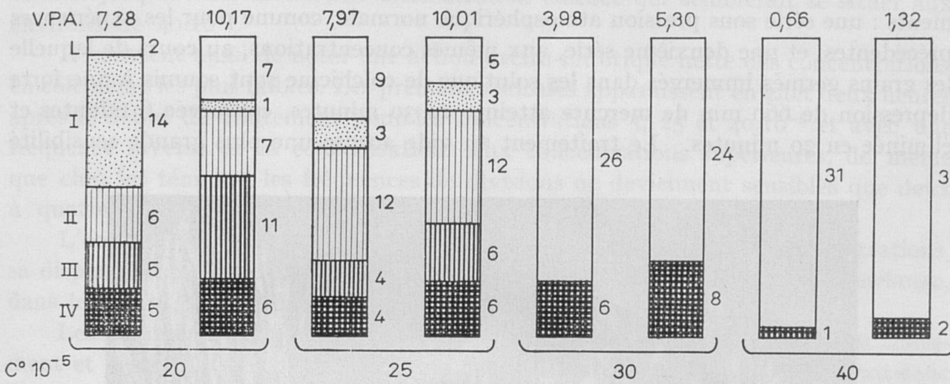
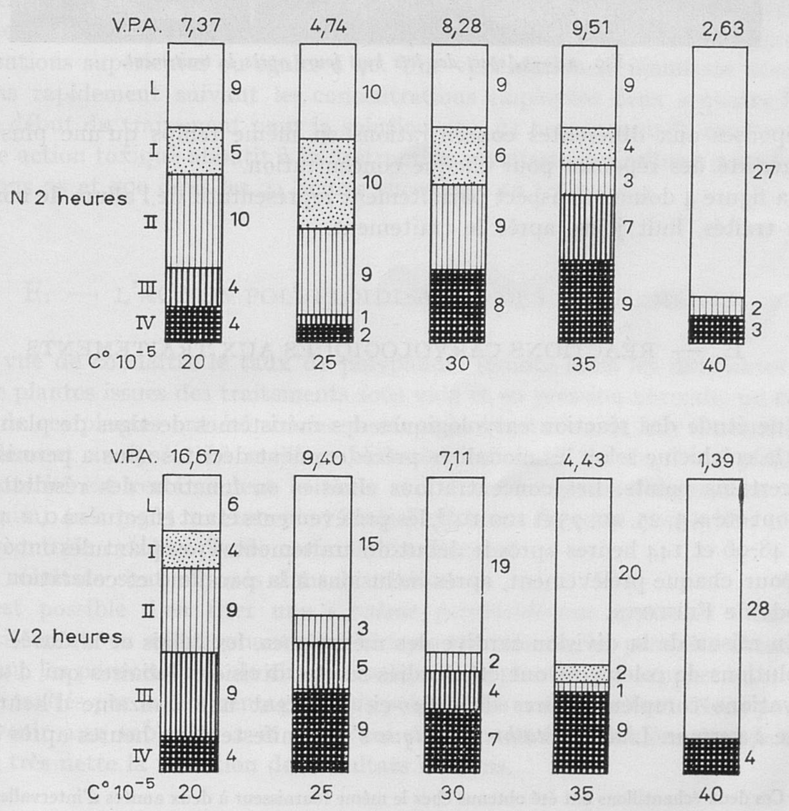


TABLEAU 3

Comparaison des résultats obtenus par traitements à différentes concentrations de colchicine " B " sous pression atmosphérique normale (N) et sous vide partiel (V).



plus efficace que la précédente (Colchicine A) [1]. On remarque ici aussi la sensibilité des réactions à des différences de concentrations peu importantes, telles que les passages de 25 à 30 et de 30 à 40. Par contre, les différences de réactions entre 25 et 20 sont davantage de l'ordre de la fluctuation.

L'expérience correspondant au tableau 3 se subdivise en deux séries de traitements : une série sous pression atmosphérique normale, comme pour les expériences précédentes, et une deuxième série, aux mêmes concentrations, au cours de laquelle les grains germés immergés dans les solutions de colchicine sont soumis à une forte dépression de 660 mm de mercure atteinte en 30 minutes, conservée 6 minutes et éliminée en 20 minutes. Le traitement au vide accuse une plus grande sensibilité

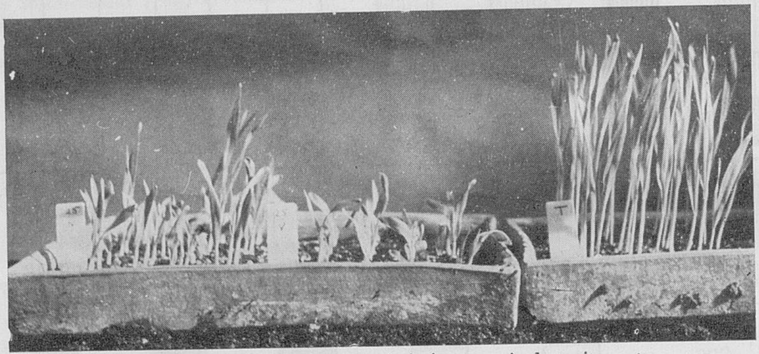


FIG. 4. — *Aspect des lots huit jours après le traitement.*

des réponses aux différentes concentrations en même temps qu'une plus grande homogénéité des réponses pour chaque concentration.

La figure 4 donne un aspect parfaitement représentatif de l'allure de nos échantillons traités, huit jours après le traitement.

E. — RÉACTIONS CARYOLOGIQUES AUX TRAITEMENTS

Une étude des réaction caryologiques des méristèmes de tiges de plantes traitées à la colchicine selon les modalités précédemment décrites nous a permis de préciser certains points. Les concentrations choisies en fonction des résultats précédents ont été 0, 5, 25, 40, 75 et 100.10^{-5}, les prélèvements étant effectués à 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 96 et 144 heures après le début du traitement. Trois plantules ont été observées pour chaque prélèvement, après inclusions à la paraffine et coloration selon la méthode de FEULGEN.

En raison de la division tardive des méristèmes, les délais et la durée d'action des solutions de colchicine ont été étudiés sur les divisions foliaires qui, d'après des observations complémentaires de celles-ci, débutent une douzaine d'heures après la mise à germer. L'*action stathmocinétique* s'y manifeste deux heures après le début

(1) Ces deux échantillons ont été obtenus chez le même fournisseur à deux années d'intervalle.

du traitement pour les concentrations égales ou supérieures à 40, quatre heures après le début du traitement pour la concentration 25 et six heures après le début du traitement pour la concentration 5.

Cet échelonnement de la rapidité d'action des diverses solutions de colchicine employées laisse supposer une accumulation progressive de la colchicine dans les cellules jusqu'à l'atteinte d'une concentration efficace qui semblerait se situer aux environs de 40.10^{-5}.

Il convient aussi de noter une action excito-mitotique nette des concentrations en colchicine les plus faibles. Les premières mitoses apparaissent en effet deux heures après le début du traitement pour les concentrations 5, 25 et 40.10^{-5} et avec une fréquence inverse de la concentration. Aux concentrations supérieures, de même que chez les témoins, les fréquences de divisions ne deviennent sensibles que deux à quatre heures plus tard.

L'activité stathmocinétique dure de 24 à 96 heures selon les concentrations, sa disparition se manifestant de la même façon que son initiation, par un mélange, dans les tissus, de stathmocinèses et de divisions normales.

Les premières cellules 4n sont observables 24 heures après le début du traitement et des cellules 8n font leur apparition 24 heures plus tard. Il semblerait donc que le cycle colchi-mitotique complet dure environ 24 heures et que certaines cellules subissent des divisions à périodicité courte qui contribuent à l'hétérogénéité des réponses cellulaires à l'action de la colchicine.

L'action toxique de la colchicine se manifeste sur les noyaux par une fragmentation des nucléoles et une lobation des noyaux dès la fin du traitement pour les concentrations supérieures ou égales à 40. Une vésiculation se manifeste aussi plus ou moins rapidement suivant les concentrations employées deux à quatre heures après le début du traitement pour la solution 100, 24 heures pour la concentration 25. Cette action toxique aboutit à la destruction manifeste des cellules pour les concentrations 75 et 100 dans les 24 heures succédant au traitement.

F. — L'ACTION POLYPLOIDISANTE DES TRAITEMENTS

En vue de connaître le taux de polyploïdie induite dans les différentes catégories de plantes issues des traitements sous vide et en pression normale, un certain nombre de ces plantes ont été suivies pendant la végétation et leur descendance a été totalement analysée. Le meilleur caractère corrélatif du degré de ploïdie de notre matériel est certainement la taille et l'allure des grains (longueur 2n : $8{,}125 \pm 0{,}075$ mm; 4n : $9{,}305 \pm 0{,}100$ mm) mais l'existence de cette corrélation n'a pas exclu le contrôle cytologique de certains cas douteux.

Les résultats sont exposés dans le tableau 4.

Il est possible d'en tirer une « *valeur polyploïdisante approchée* » des différents traitements en additionnant pour chaque traitement, les produits obtenus en multipliant les pourcentages de chaque catégorie de plantes par rapport au nombre de grains traités par le pourcentage d'épis polyploïdes correspondant. Nous pouvons alors revenir aux tableaux 2 et 3 où ces valeurs ont été calculées et objectivent de façon très nette la variation des résultats obtenus.

Il est remarquable que les catégories les plus intéressantes soient : sous pression normale la catégorie IV et sous vide partiel les catégories II et III. Par ailleurs, le taux déjà très faible de polyploïdie de la

TABLEAU 4

Catégories	Nombre épis battus			Nombre épis mixoploïdes			Nombre épis 4 n			% épis mixo + 4 n			Nombre plantes mixo + 4 n sur total observé	
	N	V	Σ	N	V	Σ	N	V	Σ	N	V	Σ	N	V
I	161	93	254	0	0	0	1	7	8	0,6	7,5	3,1	1/4	1/2
II	138	122	260	1	1	2	13	32	45	10,2	27,0	18,1	2/4	3/3
III	373	208	581	0	1	1	43	49	92	11,5	24,0	16,0	5/8	5/6
IV	269	660	929	3	10	13	54	63	117	21,2	11,1	14,0	5/7	14/23

N = Traitements sous pression normale.
V = Traitements sous vide partiel.
Le pourcentage de tétraploïdie varie suivant les plantes de 3 % à 100 %.

catégorie I devient nul si l'on déplace la limite inférieure de cette catégorie de 190 à 200 mm et le taux de polyploïdie de la catégorie II n'est alors pas sensiblement modifié.

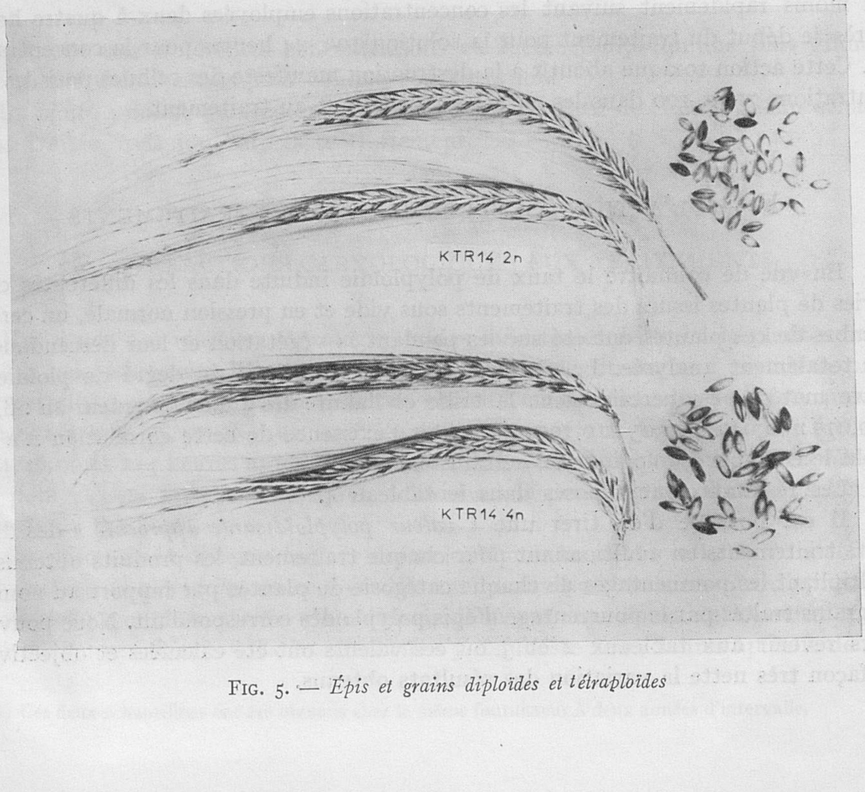


FIG. 5. — *Épis et grains diploïdes et tétraploïdes*

DISCUSSION

Les résultats obtenus au cours de ce travail préliminaire sont extrêmement encourageants si on les compare aux résultats publiés par différents auteurs sur la même espèce, dans la mesure toutefois où ces données sont comparables. On peut en effet trouver de nombreuses références qui signalent l'obtention d'orges 4n par traitements à la colchicine, mais l'analyse des rendements obtenus manque de précision et ne permet pas d'établir un parallèle satisfaisant avec nos propres résultats. Les études les plus complètes à cet égard font seulement ressortir le pourcentage de plantes 4n ou mixoploïdes obtenues, soit par rapport aux plantes analysées, soit par rapport aux grains traités. De façon générale on peut constater que quel que soit le stade choisi de développement des plantules au moment des traitements, les différents auteurs ont jugé avantageuses des concentrations nettement supérieures à celles qui nous ont donné les résultats optimum. Par immersion de grains germés, DORSEY (1939) préconise des traitements de colchicine à 250.10^{-5} pendant 20 à 30 minutes à 18°C, BREMER-REINDERS et BREMER (1952) des traitements à 200.10^{-5} pendant 2 heures ou à 100.10^{-5} pendant 3 heures, à 27°C, et SMITH (1960) des traitements à 100.10^{-5} pendant 2 heures, vraisemblablement à la température ambiante, soit une vingtaine de degrés C. Ces quelques indications mettent déjà grossièrement en évidence une interaction entre la concentration des solutions de colchicine et la durée des traitements. SMITH a ainsi obtenu dans les meilleurs cas (hybrides F_1 entre variétés) 18 p. 100 de plantes 4n ou mixoploïdes par rapport au nombre de grains traités. Mais les meilleurs rendements en polyploïdes ont été signalés par GREIS (1940) qui, traitant par immersion des caryopses secs ou après germination à des concentrations de 50, 100, 200 et 400.10^{-5} pendant 48 heures, préconise la concentration 400 sur grains germés qui lui a permis d'obtenir 14 plantes 4n et 18 plantes mixoploïdes pour 100 grains traités.

Il en est cependant de ces travaux réalisés sur Orge comme de tous ceux concernant d'autres espèces végétales qui sont venus à notre connaissance : aucun n'a abordé de façon véritablement systématique le problème des modalités d'action de la colchicine sur l'obtention effective de tissus tétraploïdes à l'exception d'un travail de DOMMERGUES publié en 1951 et qui porte précisément sur l'Orge cultivée.

Traitant les grains de la variété *Aurore* par immersion continue dans des solutions de 100, 50, 25 et 10.10^{-5} de telle façon qu'il évite, au moins partiellement, les phénomènes d'asphyxie, DOMMERGUES met essentiellement en évidence une liaison très nette entre les concentrations employées et les durées d'immersion nécessaires à l'obtention d'un rendement maximum qui varie d'ailleurs avec chaque concentration. Pour les concentrations citées *supra*, les durées de traitement optimum sont respectivement de 10-14 heures, 16-32 heures, 24-48 heures et 48-96 heures. Mais les rendement sont extrêmement faibles : « environ 9 à 10 pour cent de plantes intéressantes » dans la catégorie morphologiquement bien atteinte par le traitement. Mais ce pourcentage n'est pas relatif aux grains traités : pour le traitement optimum (25.10^{-5} pendant 32 heures) nous avons calculé que le rendement était d'environ 2 plantes polyploïdes pour 100 grains traités.

L'insuccès relatif de cette tentative tend à démontrer un point qui jusqu'ici n'avait jamais été nettement explicité : des traitements de courte durée, à condition de ne pas descendre au-dessous d'un certain seuil, sont préférables à des traitements prolongés. Ici peut d'ailleurs se poser une question au sujet des espèces traitées, selon que leurs graines sont plus ou moins pourvues de réserves et qu'elles peuvent par conséquent emmagasiner une quantité plus ou moins importante de colchicine. On peut actuellement avancer deux tentatives d'explication qui ne s'excluent pas mutuellement :

1°. — *Phénomènes d'asphyxie* — Les traitements par immersion prolongée entraînent, sauf intervention d'un dispositif antagoniste, tel le barbotage d'air, des phénomènes d'asphyxie qui entravent les processus biologiques normaux et en

TABLEAU 5

Mise en évidence de phénomènes d'asphyxie par immersion dans l'eau distillée
(dans les conditions des traitements à la colchicine)

A. — *Longueur « coléoptile + 1re feuille »*

	Durée des immersions (en heures)										
	0		1		2,5		4		6		24
96 heures	26,31	*	22,22	—	21,31	—	20,53	**	14,97	**	6,81
120 heures	43,12	*	34,69	—	36,91	—	32,66	*	26,38	**	10,50
144 heures	62,00	*	49,91	—	51,34	—	47,09	*	41,00	**	17,56
192 heures	90,09	*	74,91	—	78,56	—	70,75	—	67,44	**	34,66

B. — *Longueur « 1re feuille développée »*

69,47	—	62,81	—	62,22	—	55,22	—	57,19	**	33,78

— = différences non significatives au seuil de 5 %,
* = différences significatives au seuil de 5 %,
** = différences significatives au seuil de 1 %.

particulier les divisions cellulaires. P. LAMARDELLE (1951) a montré que des grains de blé germés, immergés dans des conditions asphyxiques (eau distillée bouillie, atmosphère d'azote ou d'hydrogène ou sous une pression de 34 mm de Hg) subissaient des anomalies et des inhibitions de caryocinèse après 2 heures dans le vide et 4 heures en atmosphère d'azote. On observe notamment des stathmocinèses (non itératives) et une *accumulation de stades pré-prophasiques*. Dans l'eau distillée bouillie, la mort des racines et des embryons survient respectivement en 48 heures et 3 jours.

Nous avons pu mettre cette influence en évidence de manière très simple. Dans les conditions mêmes de nos traitements à la colchicine, des lots de 32 caryopses germés ont été plongés dans des tubes de Borrel renfermant 15 ml d'eau distillée non bouillie pendant 0, 1, 2, 5, 4, 6 et 24 heures puis placés sur vermiculite. La longueur totale « coléoptile + 1re feuille » a été mesurée ensuite à 96, 120, 144 et 192 heures après la mise à germer des caryopses, puis la longueur totale du limbe de la première feuille entièrement développée. Les résultats sont présentés dans le tableau 5. En ce qui concerne les premières mensurations effectuées (A), les différences significatives observées entre 0 et 1 heure d'immersion sont assez surpre-

nantes ; mais on constate par ailleurs une absence de différences significatives entre 1 heure et 4 heures d'immersion. La différence observée au départ entre 4 heures et 6 heures s'atténue progressivement pour disparaître entièrement à 192 heures. Les longueurs de limbe de première feuille entièrement développée ne marquent une différence, hautement significative d'ailleurs, que pour 24 heures d'immersion.

D'après ces résultats très limités on peut essentiellement conclure que l'allongement des durées d'immersion, donc probablement de l'anoxie, provoque une inhibition parallèle de l'allongement des organes végétatifs, inhibition qui devient irréversible lorsque l'on passe de 6 à 24 heures d'immersion. Il faut noter toutefois que l'anoxie ainsi provoquée pourrait être beaucoup plus intense et que par conséauent les phénomènes constatés sont des réactions minima. Par ailleurs rien ne permet d'afflrmer que les réactions anoxiques des plantules immergées dans l'eau distillée soient comparables à celles qui se produisent dans une solution toxique telle que celles employées pour les traitements polyploïdisants. On doit même, *a priori*, supposer qu'elles y sont considérablement amplifiées. L'effet de toxicité superposé à l'effet d'asphyxie ne doit donc pas être sous-estimé et tout laisse à penser que l'asphyxie peut à elle seule provoquer une mortalité considérable. Cette mortalité n'est pas à envisager pour les seuls individus : elle peut aussi atteindre différentiellement les cellules et, du fait de la fragilité relative des cellules 4n, entraîner une disparition fâcheuse de celles-ci. D'où une mortalité élevé des plantes et une réduction des chimères 4n.

2°. — *Caractère itératif des stathmocinèses induites par la colchicine* : de ce fait même il est évident que chaque cellule entrée en division en présence d'une concentration active de l'alcaloïde subira un doublement chromosomique quel que soit son degré de ploïdie. Or nous avons vu qu'après 48 heures d'activité colchicinique il existe déjà une certaine proportion de cellules 2n. Comme nous avons estimé à 24 heures la durée d'un cycle mitotique complet on peut en déduire l'existence d'une hétérogénéité fondamentale dans l'évolution des différentes cellules méristématiques : dans un temps donné certaines cellules subissent plusieurs divisions tandis que d'autres n'en subissent qu'une seule ou même aucune.

Si la durée considérée correspond à la période d'activité mitoclasique, son allongement excessif entraîne la formation de cellules d'un degré de ploïdie élevé qui sont probablement défavorisées dans la compétition qui les oppose aux cellules di- ou même tétraploïdes et qui n'apparaissent pas. Et, même si elles venaient à apparaître au niveau des cellules sexuelles, elles correspondraient à un dépassement du but fixé qui est le simple doublement de la garniture chromosomique. De plus, l'ensemble des résultats obtenus jusqu'ici ne permet en aucune façon de penser qu'on réduit sensiblement la proportion des cellules diploïdes en allongeant la durée des traitements au-delà d'une certaine limite. Il n'est pour s'en convaincre que de suivre l'évolution des durées de trempage (ainsi que des concentrations) préconisées depuis les premiers travaux sur ce sujet. Il semble même que l'intoxication produite, qui se superpose à l'activité proprement mitoclasique, réduise l'activité cellulaire à partir d'un certain seuil tant des concentrations que des durées, et s'oppose ainsi partiellement à son propre effet. Ce qui, avec les différences éventuelles de qualité de la colchicine, expliquerait dans une certaine mesure qu'il soit possible d'obtenir des résultats positifs avec des concentrations et des durées extrêmements différentes.

Ceci nous amène à concevoir que les **rendements** maximum en matière de traitements polyploïdisants sont essentiellement liés à *l'entrée en division d'un nombre maximum de cellules dans une durée minimum* correspondant à la période d'activité mitoclasique de la colchicine dans les tissus méristématiques. Les modalités de traitement préconisées sur Betterave par von ROSEN (1949), qui sont basées sur le principe d'une accélération des divisions par choc thermique préalablement au traitement, constituent une tentative heureuse dans ce sens. Par ailleurs, l'emploi de solutions de colchicine à concentration aussi faible que possible aurait à cet égard une action favorable de par l'effet excito-mitotique que nous avons signalé.

L'action favorable du vide résulte probablement de la juxtaposition de deux effets entièrement différents :

1º La pénétration de la solution dans les tissus est améliorée surtout par la suppression des poches d'air superficielles qui s'opposent à une imbibition rapide et homogène. Par ailleurs, il est probable que la pénétration elle-même est accélérée, dans les cellules d'une part, mais surtout dans les méats cellulaires ce qui compléterait l'effet superficiel.

2º l'accumulation de stades pré-prophasiques signalée par LAMARDELLE dans son travail cité plus haut est probablement un phénomène important à considérer. Il est en effet un premier pas vers la situation optimum théorique à laquelle nous tendons et qui consisterait à mettre en pré-prophase, juste avant le traitement *toutes* les cellules sinon du méristème, du moins celles qui donneront naissance aux organes reproducteurs. A ce sujet il est intéressant de signaler qu'une telle situation a été obtenue entre autres sur des cultures de *Tetrahymera piriformis* par des alternances de température élevée sublétale et de température optimum (SCHERBAUM et ZEUTHEN, 1954). De telles colonies ne sont évidemment pas homologues d'un massif méristématique nettement différencié physiologiquement mais il n'est pas excessivement téméraire, à notre avis, de supposer qu'on puisse atteindre un tel état d'uniformisation des stades mitotiques par des méthodes appropriées.

Il est un autre aspect de la méthode que nous avons employée qui mérite une attention particulière : c'est la **précision des résultats** qu'elle permet d'obtenir.

Nous remarquons tout d'abord que les concentrations efficaces correspondent parfaitement aux concentrations minima utilisées par les cytologistes travaillant sur racines de bulbes d'*Allium cepa* immergées en permanence dans les solutions pendant des durées atteignant plusieurs jours (*cf.* MANGENOT 1942 ; GAVAUDAN, 1945 ; DEYSSON, 1952 par exemple). Ceci demeurant parfaitement valable pour la concentration-seuil généralement admise : 5.10^{-5}. Le premier essai entrepris, effectué avec la colchicine « A » sous pression atmosphérique normale avec 3 heures d'immersion avait montré une absence d'effet décelable à la concentration 5 et l'apparition de 2 plantes morphologiquement très touchées sur 32 à la concentration 10.10^{-5}. Or DEYSSON (*l.c.*) signale que, pour la concentration 5.10^{-5} les stathmocinèses n'apparaissent généralement pas avant 24 heures dans les conditions signalées plus haut et l'action mitoclasique n'est jamais totale ; l'effet stathmocinétique total se manifeste pour un traitement de 24 à 48 heures à la concentration de 10.10^{-5}.

La précision de la méthode se retrouve aussi dans la sensibilité des réactions différentielles du matériel employé pour des variations de concentration de 5.10^{-5} (tabl. 3) et il nous semble très important de noter que cette action différentielle

des concentrations se fait d'autant moins sentir que l'on s'éloigne de la concentration optimum (tabl. 1). Soulignons aussi que l'application du vide au début des traitements améliore considérablement cette précision (tabl. 3).

Il est nécessaire par ailleurs de remarquer que la colchicine cristallisée utilisée dans ce travail n'a pas été purifiée ni contrôlée. Cette absence de contrôle était parfaitement justifiable *a priori* étant donné, d'une part l'objectif que nous nous étions fixé et d'autre part les résultats identiques obtenus par STEINEGGER et LEVAN, (1947) de l'analyse comparative des modalités d'action de la colchicine amorphe, pure et d'une colchicine cristallisée renfermant du chloroforme. En effet, selon les modalités de purification, la colchicine pure peut se trouver combinée à une demi ou une molécule de chloroforme, donnant ainsi un produit cristallisé dont la solubilité dans l'eau est très sensiblement réduite. Elle passe en effet, selon ZEISER (cité par STEINEGGER et LEVAN) d'une valeur illimitée lorsqu'elle est à l'état pur à 4 p. cent lorsque la molécule de colchicine $C_{22} H_{25} O_6 N$ se trouve associée à une molécule de $C H Cl_3$. Notons que les concentrations utilisées par STEINEGGER et LEVAN atteignent $20.10,^{-5}$ valeur identique ou peu différente des concentrations employées dans nos expériences. Cependant les différences que nous avons constatées entre les deux sources de colchicine utilisées, jointes à l'intérêt pratique présenté par nos résultats nous conduiront à préciser ces données.

CONCLUSION

Outre le fait d'une sensibilité et d'une fidélité considérables des réactions du matériel aux traitements expérimentés, il convient de remarquer la concordance des résultats obtenus par l'analyse cytologique et l'observation des réactions des plantules traitées en ce qui concerne le choix des concentrations à adopter pour obtenir le doublement chromosomique. Compte tenu des différences d'activité des deux échantillons de colchicine que nous avons employés, les concentrations utiles se situent entre 20 et 40.10^{-5} pour un traitement par immersion de 2 heures à 21°C de graines en début de germination. Ces concentrations efficaces sont beaucoup plus faibles que celles généralement signalées dans la littérature et ont cependant abouti à des taux de polyploïdie extrêmement élevés pour certaines catégories de plantes, celles-ci ayant été établies sur la base de l'intensité des réactions morphologiques 4 semaines après le traitement. En première approximation on peut conclure à ce sujet que les plantes n'ayant pas réagi morphologiquement au traitement sont pratiquement demeurées diploïdes, mais que les plantes les plus déformées ne sont pas nécessairement celles dont le taux de polyploïdie est maximum. Ceci s'est révélé particulièrement net pour les traitements sous vide partiel qui régularisent considérablement l'action de la colchicine aux concentrations utiles.

Ce travail a été conduit essentiellement sous l'angle de la recherche d'une méthode d'analyse des réactions ploïdiques d'un matériel végétal déterminé soumis à un traitement colchicinique dont les conditions ont aussi été fixées *a priori*. De ce fait certains résultats devront être confirmés par l'étude d'un matériel plus abondant. Cependant il semble que les taux de polydoïdie ainsi induits correspondent à un

plafond. Peut-être pourra-t-on améliorer légèrement les résultats en modifiant la température du traitement ou certaines conditions mineures de la technique. Mais en l'état actuel de nos connaissances, le goulet d'étranglement dans la production des polyploïdes demeure le taux de divisions du matériel traité. Et c'est essentiellement dans cette direction que les travaux de recherche devraient permettre une amélioration sensible de la réaction polyploïdique des plantes aux traitements mitoclasiques.

Reçu pour publication en juin 1964.

SUMMARY

PRELIMINARY STUDIES ON BARLEY FOR THE IMPROVEMENT OF COLCHICINE TREATMENTS

The quest for a basic method of studying the possibilities of improving the efficiency of polyploidizing treatments led us :

1° to choose a naked spring barley as a working material.

2° to carry out the colchicine treatments by immersing pre-germinated seeds for 2 or 3 hours.

3° to draw a classification of the visible responses to colchicine toxicity, based on the length of the 3rd leaf.

4° to considerer. 020 p. 100 to. 040 p. 100 concentrations as the most valid, on the ground of morphological and cytological observations for a uniform treatment temperature of 21°C. The technique followed gives relatively accurate reactions and detects differences in concentration of 10 and even 5.10^{-5}. The effect of vacuum during the treatment evens out the responses of treated lots quite noticeably.

5° to detect a mitosis-stimulating effect in weak colchicine concentrations and to observe that the stathmocinetic action, under our treatment conditions, appears from 2 hours after beginning of immersion onwards, and persist for 24 to 96 hours. A complete colchi-mitotic cycle is achieved in a score of hours.

6° to obtain polyploidy rates of 21 p. 100 in class IV (the most affected one) of the treatments under normal pressure, of 24 and 27 p. 100 in classes II and III of the treatments under partial vacuum. Size and shape of seed appeared to be the best correlative character of the degree of ploidy.

Those results are discussed.

ZUSAMMENFASSUNG

VORBEREITENDE FORSCHUNGEN UBER GERSTE MIT DER ABSICHT DIE BEHANDLUNG MIT COLCHIZIN ZU VERBESSERN

Die Erforschung einer grundmethode zur Verbesserung der die Polyploïdie fördernde Behandlung hat dazu geführt :

1° eine Frühlingsgerste als Arbeitsmaterial zu adoptieren ;

2° die Behandlung mit Colchizin durch ein 2-oder 3-stündiges Eintauchen der vorgekeimten Körner durchzuführen ;

3° eine auf der Länge des dritten Blattes basierte Klassifikation der sichtbaren Reaktionen infolge der giftigen Wirkung des Colchizins herzustellen ;

4° auf der Grund morphologischer und cytologischer Beobachtungen die Konzentrationen 0,020 p. 100 bis 0,040 p. 100 als die Günstisten bei einer gleichmässigen Behandlungstemperatur von 21 C zu betrachten. Die angewandte Technik ergibt ziemlich genaue Reaktionen und bringt Konzentrationsunterschiede von 10. und selbst 5.10^{-5} zum Vorschein. Die Anwendung des Vakuums während der Behandlung homogeneisiert sehr wirksam die Reaktion der behandelten Körner.

5° bemerkenswert ist, dass bei unseren Behandlungsbedingungen die stathmokinetische Wirkung erst zwei Stunden nach dem Eintauchen eintritt und während 24 bis 96 Stunden erhalten bleibt. Eine vollständiger colchimitotischer Zyklus dauert ungefähr 20 Stunden ;

6° Polyploïdiegrade von 21 p. 100 in der Kategorie IV (am meisten betroffene) bei unter normalem Druck durchgeführten Behandlungen, von 24 und 27 p. 100 in den Kategorien II und III der unter Teil-Vakuum behandelten Körner zu erlangen. Grösse und Form der Körner haben sich als am engsten mit dem ploïdiegrade zusammenhängende Merkmale herausgestellt.

Diese Ergebnisse werden durchgesprochen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BLAKESLEE A., 1937. Dédoublement du nombre de chromosomes chez les plantes par traitement chimique. *C. R. Acad. Sci. Paris,* **205,** 476-479.

BLAKESLEE A. et AVERY A., 1937. Methods of inducing doubling of chromosomes in plants. *J. Hered.,* **28,** 393-411.

BREMER-REINDERS D. E. et BREMER G., 1952. Methods used for producing polyploid agricultural plants. *Euphytica,* **1,** 87-94.

DEYSSON G., 1952. Recherches sur la perméabilité des cellules végétales. *Rev. Cytol. Biol. Végét.,* **13,** 153-315.

DOMMERGUES P., 1951. Action de la colchicine sur l'orge cultivée. *Ann. Amélior. Plantes,* **1,** 295-331.

DORSEY E., 1939. Chromosome doubling in the Cereals. *J. Hered.* **30,** 393-395.

EIGSTI O. J. et DUSTIN P., 1955. *Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry,* 470 p., Iowa State College Press, U. S. A.

EIGSTI O. J., 1957. Induced polyploidy. *Amer. J. Bot.,* **44,** 272-279.

GAVAUDAN. P., 1945. *Pharmacodynamie de l'inhibition de la caryocinèse.* Thèse Doct. Pharm. État Paris 337 p.

GREIS H., 1940. Vergleichende physiologische Untersuchungen an diploiden und tetraploiden Gersten. *Züchter,* **12,** 62-73.

KRYTHE J. M. et WELLENSIEK S. J., 1942. Five years of colchicine research. *Bibliographia genetica* **14,** 1-132.

LAMARDELLE P., 1951. Influence de l'anoxie sur la caryocinèse dans la cellule végétale. *C. R. Acad. Sci. Paris,* **233,** 1055-1057.

MANGENOT G., 1942. *Action de la colchicine sur les racines d'Allium Cepa. Act. Scient. et Ind.,* 120 p., HERMANN et C ie Éd., Paris.

NEBEL B., 1937. Cytological observations on colchicine. *Collecting Net.,* **12,** 130-131.

NEBEL B. et RUTTLE M., 1937. Action of colchicine on mitosis. *Genetics,* **23,** 161-162.

ROSEN G. von, 1949. Problems and methods in the production of tetraploids within the genus *Beta. Socker Handlingar,* **5,** 197-217.

SCHERBAUM O. et ZEUTHEN E., 1954. Induction of synchronous cell division in mass cultures of *Tetrahymena piriformis. Exp. Cell Res.,* **6,** 221-227.

SMITH W. E., 1960. Fertility of autotetraploid varieties and hybrids of Barley. *Canad. J. Plant Sci.,* **40,** 434-442.

STEINEGGER E. et LEVAN A., 1947. The cytological effect of chloroform and colchicine on *Allium. Hereditas,* **33,** 515-525.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 23-36.

ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ DES VARIÉTÉS DE POIS AU VIRUS DE LA MOSAIQUE COMMUNE DU POIS ÉTUDE GÉNÉTIQUE DE LA RÉSISTANCE

R. COUSIN

Station centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

Les différentes variétés de Pois en collection au Centre de Versailles ont été inoculées en serre par le virus de la Mosaïque commune du Pois. Sur 405 variétés, 118 ont été trouvées résistantes. L'étude génétique de cette résistance a été effectuée sur les descendances F_2 et F_3 des différents croisements effectués entre les variétés résistantes *Relance, Juwel* et les variétés sensibles *Mignon, Diamant*. Les disjonctions observées sont compatibles avec l'hypothèse 3-1, la résistance étant monofactorielle récessive. Les résultats peuvent être assimilés à ceux obtenus par YEN, FRY (1956) et JOHNSON, HAGEDORN (1958) pour la résistance des variétés de pois au virus de la Mosaïque jaune du Haricot (virus 2 du Haricot).

Le comportement des variétés vis-à-vis de ces deux virus est identique et l'étude génétique de la résistance aboutit également aux mêmes conclusions.

INTRODUCTION

La Mosaïque du Pois peut être provoquée par différents virus, en particulier par celui de la Mosaïque commune du Pois et celui de la Mosaïque jaune du Haricot. Les travaux effectués jusqu'à présent ne permettent pas de préciser s'il s'agit de deux virus différents ou de deux souches d'un même virus.

Actuellement dans la liste proposée par les membres du « International Working group on Legume viruses » on admet que le virus de la Mosaïque commune du Pois est celui décrit par DOOLITTLE et JONES, et le virus 2 du Haricot celui décrit par PIERCE. La différence entre ces deux virus réside essentiellement dans le fait que celui de la Mosaïque commune du Pois ne peut être transmis au haricot, tandis que le virus 2 du Haricot passe de l'un des hôtes à l'autre.

Le virus de la Mosaïque commune du Pois est très répandu dans le monde entier : Amérique, Europe, Japon, Australie. La maladie a éré signalée pour la première fois en 1922 par DICKSON au Canada. DOOLITTLE et JONES en 1925 en firent la description et réussirent les transmissions par inoculation mécanique et par pucerons, démontrant ainsi la nature virale de cette maladie. PIERCE (1935), ZAUMEYER (1936), DONALD, MURPHY et PIERCE (1937), STUBBS (1937) puis CHAMBERLAIN (1954) indiquèrent la sensibilité d'une cinquantaine de variétés.

Le virus 2 du Haricot a été décrit pour la première fois par PIERCE (1934-1935) qui en fit une étude comparative avec le virus de la Mosaïque commune du Pois désigné par l'auteur sous le nom de « virus 3 » : sur pois, les symptômes du virus 2 du Haricot sont plus faibles que ceux provoqués par la Mosaïque commune. Puis HAGEDORN et WALKER (1950) indiquèrent quelques variétés résistantes au virus 2 du Haricot.

Seule l'étude de la résistance à cette dernière maladie a été effectuée. YEN et FRY (1956), JOHNSON et HAGEDORN (1958) en utilisant des souches transmissibles au Haricot, ont démontré que la résistance était monofactorielle récessive.

Le virus de la Mosaïque commune n'est pas transmis par la semence du pois. Il hiverne sur différentes espèces de la famille des Légumineuses telles que le Trèfle violet, le Trèfle hybride. Puis il est disséminé au printemps par pucerons : *Myzus persicae* SULZ., *Acyrthosiphon pisi* HARRIS, *Onobrychis* BOYER DE F., *Aphis fabae* SCOP., suivant le mode non persistant.

La proportion des plantes infectées varie suivant les auteurs de 30 à 40 p. 100 dans certaines régions de Nouvelle-Zélande (CHAMBERLAIN) à 5 à 15 p. 100 dans le Wisconsin (DOOLITTLE et JONES). En France si la maladie ne présente pas une telle extension, il est cependant nécessaire de connaître avec précision la sensibilité des différentes variétés, afin de choisir celles qui sont résistantes dans un programme de sélection, la résistance étant le moyen de lutte le plus efficace contre la maladie.

Nous avons donc entrepris l'étude de la sensibilité des variétés en collection à Versailles et de la nature génétique de la résistance.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Virus

La souche de Mosaïque commune du Pois nous a été fournie par la Station de Pathologie végétale à Versailles. Elle est conservée en serre sur Pois ou sur Fève.

Pois

Chaque variété est semée à raison de 8 graines par pots de 18 ou 20 cm dans un mélange en parties égales de sable et de terreau stérilisé, en serre à 18-20° et sous un éclairage d'appoint pendans l'hiver.

Inoculation

Les plantes sont inoculées mécaniquement lorsqu'elles ont atteint le stade de 2 à 3 feuilles étalées. Sur les deux dernières feuilles enduites de carborundum on verse une goutte de jus de plantes malades que l'on épand aussitôt en frottant légèrement à l'aide d'une baguette de verre. Il est nécessaire d'opérer rapidement pour obtenir un pourcentage élevé de transmission. L'inoculum est constitué par un jus, extrait à l'aide d'une pince hollandaise, de plantes présentant des symptômes très caractéristiques.

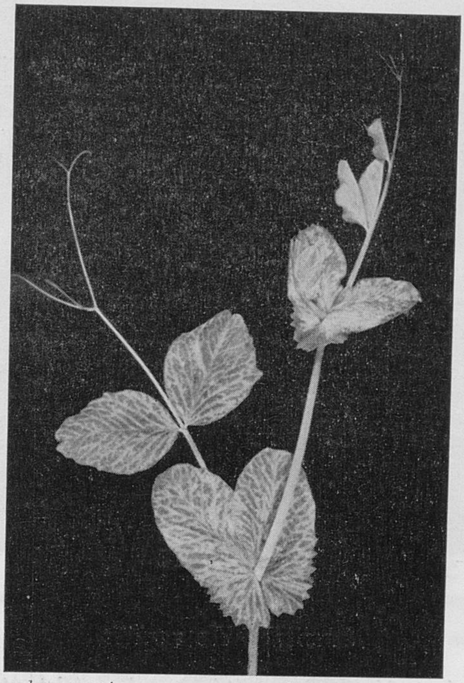


FIG. 1. — *Apparition des symptômes sur une plante infectée de la variété* Serpette de Paris, *éclaircissement des nervures puis mosaïque*

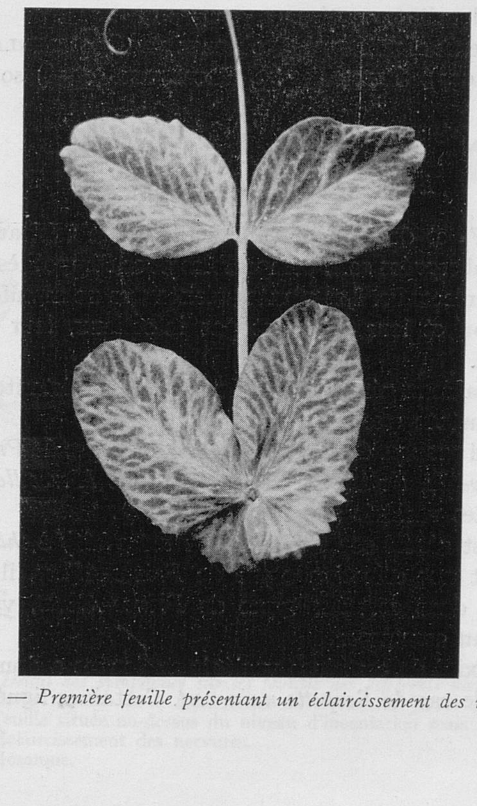


FIG. 2. — *Première feuille présentant un éclaircissement des nervures*

Symptômes

Les symptômes n'apparaissent que sur les organes formés après l'infection. Huit à quinze jours après l'inoculation on observe un éclaircissement des nervures. Les jeunes feuilles apparaissent finement réticulées, puis sur les feuilles suivantes quelque peu réduites et parfois légèrement déformées on remarque une Mosaïque jaune de plus en plus accentuée, les régions claires étant situées entre les nervures (fig. 1, 2, 3, 4). Les plantes malades, plus petites, fleurissent tardivement, Les gousses sont moins nombreuses et irrégulièrement fécondées.

Étude génétique de la résistance

En 1961 des croisements ont été effectués entre deux variétés résistantes : *Relance, Juwel* et les variétés sensibles *Mignon, Diamant.*

Les descendances du croisement *Relance* × *Diamant* ont été analysées en F_2 en 1962 tandis que les descendances des autres croisements ont été inoculées en F_3 pendant l'hiver 1963-64. Les lignées ne présentant aucun symptôme trois semaines après la première infection ont été réinoculées. Enfin les lignées résistantes après cette deuxième inoculation sont semées et inoculées à nouveau afin de confirmer les résultats obtenus.

RÉSULTATS

Sensibilité des variétés

Sur 405 variétés inoculées 118 ont été trouvées résistantes. Les résultats sont présentés dans le tableau 1. Toutes ces variétés ont été inoculées au moins deux fois au cours de ces dernières années.

Un certain nombre de résultats, déjà obtenus par Chamberlain (1954), Donald Murphy et Pierce (1937), Stubb (1937), Zaumeyer (1956) sont rassemblés dans le tableau 2.

Étude génétique de la résistance

L'analyse de la F_2 et de la F_3 est donnée dans le tableau 3.

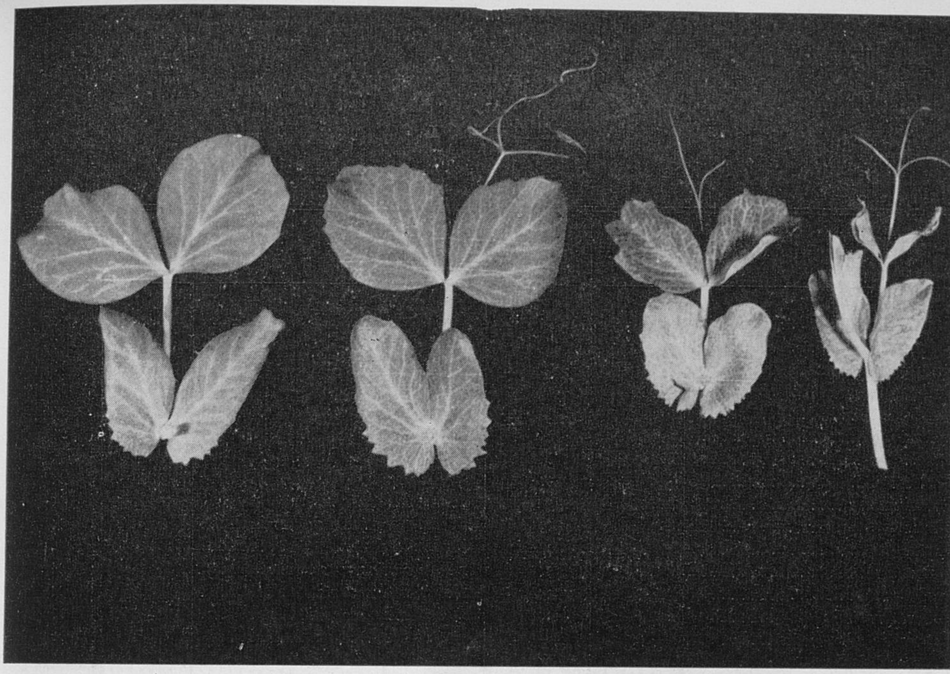
Les disjonctions observées sont compatibles avec l'hypothèse 3-1. La résistance serait monofactorielle récessive. Les plantes résistantes ne manifestent aucun symptôme après inoculation et leur jus n'est pas infectieux, leur résistance apparaît comme une immunité.

Si on établit un tableau généalogique des variétés résistantes inscrites au Catalogue français, on constate que :

Nain très hâtif d'Annonay, Chemin long, certains types de *Prince-Albert, Superbe de Laxton, Petite merveille, Delicatess, Hada, Horal* et *Merveille d'Amérique* sont à l'origine des principales variétés résistantes (tabl. 4).

Prince-Albert s'est révélé sensible et *Nain extra hâtif à châssis* résistant. Cette dernière variété étant une sélection naine de *Prince-Albert,* il faut admettre que la résistance existait dans certains types de *Prince-Albert,* variété non fixée au moment de sa mise au commerce.

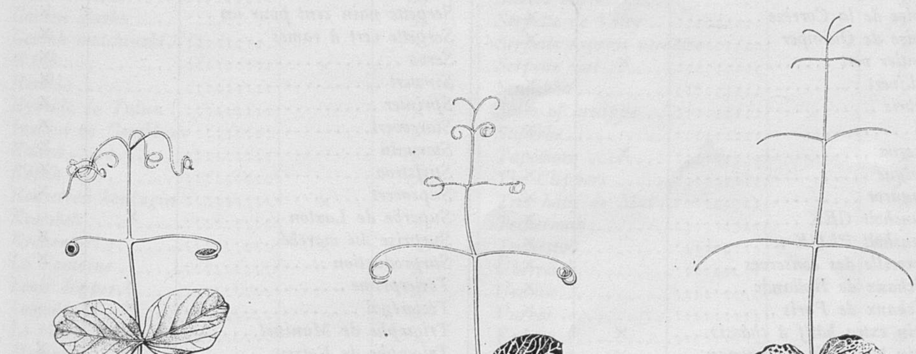
Le manque de fixité de certaines variétés anciennes a donné lieu à un phénomène analogue dans le cas de *Serpette nain vert.* Certaines lignées de cette dernière



A B C D

FIG. 3. — *Détail des symptômes sur les feuilles des différents nœuds successifs d'une plante infectée de la variété* Oreste

A. — Feuille située au-dessus du niveau d'inoculation mais sans symptôme.
B. — Éclaircissement des nervures.
C. — Très fort éclaircissement des nervures.
D. — Mosaïque.



A B C

FIG. 4. — *Détail des symptômes sur les feuilles des différents nœuds successifs d'une plante sensible de la descendance du croisement* Juwel × Mignon

A. — Feuille située au-dessus du niveau d'inoculation mais sans symptôme.
B. — Éclaircissement des nervures.
C. — Mosaïque.

TABLEAU I

Variétés à grains ronds inscrites au catalogue

	Résistant	Sensible		Résistant	Sensible
Anik		×	*Perle verte*		×
Annovert	×		*Petit breton*		×
Automobile		×	*Petit cévenol*		×
Aviateur	×		*Petit provençal*		×
Basile		×	*Plein le panier*		×
Brunsviga		×	*Primcovert*		×
Caractatus		×	*Prince Albert*		×
Centvert		×	*Profusion*		×
Chemin long	×		*42 de Sarcelles*		×
Clamart 3 gousses		×	*42 de Sarcelles amélioré*		×
Clause 50		×	*Rafale*	×	
Clauselan		×	*Roi des conserves*		×
Clauserva		×	*Roi des fins verts*		×
Douce Provence		×	*Roi des serpettes*		×
Espoir de Gembloux	×		*Rondo*		×
Express Alaska		×	*Sabre*		×
Express à longue cosse		×	*Saveurfine*	×	
Fin de la Bièvre	×		*Saxa*		×
Fin des gourmets		×	*Saxa vert*		×
Firstcovert		×	*Serpette d'Auvergne*		×
Flandrexquis	×		*Serpette de Paris*		×
Folger		×	*Serpette express*		×
Gladiateur		×	*Serpette Guilloteaux*		×
Gloire de la Corrèze		×	*Serpette nain cent pour un*		×
Gloire de Quimper		×	*Serpette vert à rames*		×
Gontier vert	×		*Servo*		×
Gullivert		×	*Simvert*		×
Hybris		×	*Sprinter*		×
Isa		×	*Starcovert*		×
Joserva	×		*Starnain*		×
Lévêque		×	*Stijfstroo*		×
Manacor		×	*Supcovert*		×
Mansholt GEK		×	*Superbe de Laxton*	×	
Mansholt PLUK		×	*Surprise du marché*		×
Merveille des conserves		×	*Surproduction*		×
Michaux de Hollande		×	*Tézierprime*	×	
Michaux de Paris		×	*Tézierégal*	×	
Nain extra hâtif à châssis	×		*Triomphe de Maninet*	×	
Nain très hâtif d'Annonay	×		*Triomphe de Roissy*		×
Norcovert		×	*Triomphe des conserves*		×
Obéron	×		*Unica*		×
Onsa		×	*Victoria marrow*		×
Oreste		×	*Volontaire*	×	
Orgueil du marché		×	*Zelka*		×
Parel		×			

Variétés étrangères ou anciennes à grains ronds

	Résistant	Sensible		Résistant	Sensible
Acacia noir		×	*Antoine*		×
Alaska		×	*Arthur*		×
Alaska earliest of all		×	*Aurora*		×
Allerfrüheste Mai		×	*Avanti*		×
Aller gele Krombek		×	*Bastard*		×
Ameer		×	*Bountiful*		×

TABLEAU I *(suite)*

	Résistant	Sensible		Résistant	Sensible
Brunswick		×	*Nain extra hâtif à châssis de la Saulaie*	×	
Canning queen		×	*Nain hâtif amélioré*		×
Chancellor		×	*Nain l'unique*		×
Clamart hâtif		×	*Nain rond vert très hâtif*		×
Conservo		×	*Norland*		×
Créole		×	*N° 40*		×
Doperwt late Veense		×	*Objat*		×
Early blue		×	*Ole Ohlsen*	×	
Early round	×		*Orgueil du marché vert*		×
Elberta		×	*Paula*		×
Exalda		×	*Phénomène*		×
Express à longue cosse		×	*Promotor*	×	
Express amélioré très hâtif		×	*Pusa*		×
Extra rapide		×	*Radio*		×
Feltham advance	×		*Rapide*		×
Feltham first		×	*Record*		×
Feltham forward	×		*Reine de Mai*		×
Fenomen		×	*Rheinlanderin*		×
Finlande		×	*Riesen-Sabel*		×
First and best		×	*Roi des fins verts hâtifs*		×
Foremost	×		*Saint-Cyprians*		×
Forto		×	*Saxanova*		×
Frühe-Heinrich		×	*Schnabel grosshulsy*		×
Frühe niedrige volltragen	×		*Selecta express*		×
Frühe vensche		×	*Serpette de Vitry*		×
Garden alaska		×	*Serpette express verdâtre*		×
Gorokh matchinski		×	*Serpette vert*		×
G 168	×		*Sinnikka*		×
Heralda		×	*Stam of kruippe*	×	
Hybride de Tulun		×	*Superbe*	×	
Institut de Gembloux		×	*Tapeouan*		×
Kaleva		×	*The Clippers*		×
Karlik		×	*Très hâtif de Mai*		×
Konserven koningin	×		*Tschermak*		×
Krombek		×	*Turkestan*		×
Kronenperl	×		*Überreich*		×
La Fontaine		×	*Urania*	×	
Lente dopper		×	*Varhès*		×
Leopold II		×	*Vedette*		×
Le plus hâtif de Mai		×	*25 EMK*	×	
Mammoth podded		×	*25 EZK*	×	
Marché de Berne		×	*Virtus*		×
Marktveroveraar		×	*Vlijsme Krombek*		×
Meidopper		×	*Vorbote*		×
Meikoningin		×	*Vroege Haarsteege*		×
Merveille d'Étampes	×		*Wico*		×
Météor dwarf		×	*Winnerpea*		×
Michaux La Bruyère		×	*Yukon*		×
Monopol		×	*Zoete Eminent*		×
Monte amélioré		×			
Nain de Mai		×			
Mangetouts					
Bambino		×	*Blanc de Maninet*		×
Beurre à cosse jaune		×	*Carouby*		×

TABLEAU I (*suite*)

	Résistant	Sensible		Résistant	Sensible
Carouby à cosse blonde		×	*Melting sugar*		×
Carouby à cosse verte		×	*Merveille du Maroc*		×
Carouby de Maussanne		×	*Nain sucré I*		×
Corne de bélier		×	*Nain sucré II*		×
Demi-nain Debève		×	*Norland express*		×
Demi-nain Breton		×	*Norli*		×
Demi-rame de 40 jours		×	*Normand*		×
Diana	×		*Pariser Schwert*		×
Dwarf grey sugar		×	*Py Lafite*		×
Fondant de Saint-Désirat		×	*Ridé d'Isigny*		×
Géant à très large cosse et fleurs violettes		×	*Roi des Carouby*		×
Géant doré		×	*Schweizer Riesen Gebülzige*		×
Goldkoningin		×	*Schweizer Riesen Hug's*		×
Hâtif à large cosse		×	*Spahi*		×
Henri		×	*Supermangetout*		×
Koloss		×	*Tall sugar*		×
Mammoth melting sugar		×	*Vatters jubilanum*		×
Mangetout nain très hâtif à châssis		×	*Weggiser Johannus*		×
Variétés à grains ridés inscrites au catalogue					
Acacia ridé		×	*Myzar*		×
Amiral beatty		×	*Onward*	×	
Arkel	×		*Petite Merveille*	×	
Brillant	×		*Pois de conserves 99*		×
Censeur	×		*Précursor*	×	
Centurion		×	*Progrès de Laxton*		×
Délice des conserves	×		*Pygma*	×	
Diamant		×	*Relance*	×	
Drusus		×	*Ridcovert*	×	
Duc d'Albany à feuillage blond		×	*Ridé vert de Knight*		×
Étoile	×		*Roi des Halles*		×
Fakir	×		*Sénateur*		×
Gebruder dippe deli	×		*Serpette nain vert*		×
Gloire de Witham	×		*Siegerin*		×
Gradus		×	*Stratagème*		×
Hada	×		*Sucré premier*		×
Istar		×	*Téléphone nain*	×	
Juwel	×		*Téléphone*		×
Kelvedon Monarch	×		*Télévision*	×	
Knight demi-nain vert	×		*Tezierlindon*	×	
Lancet	×		*Thomas Laxton*		×
Le Délicieux		×	*Trésor*	×	
Lincoln		×	*Triomphe de Kelvedon*		×
Merveille d'Amérique	×		*Trophy*	×	
Merveille d'Angleterre	×		*Union Jack*		×
Merveille de Kelvedon	×		*Viabona*		×
Merveille de Weissenfels	×		*Vitalis*	×	
Mignon		×	*William Hurst*		×
Miracle		×			
Variétés étrangères ou anciennes à grains ridés					
Acacia en chenille		×	*A 100*	×	
Ace	×		*Achievement*		×

TABLEAU 1 *(suite)*

	Résistant	Sensible		Résistant	Sensible
Alderman improved		×	*Icer*	×	
Ambition	×		*Kelvedon Spitfire*		×
Balder	×		*Konservenperl*		×
Bliss abondance		×	*Kromborg*	×	
Blue batam	×		*Lamprecht*		×
British Lion		×	*Lancashirelad*	×	
Burpeana	×		*Maraîcher*		×
Canner king	×		*Midfreezer*	×	
Canner perfection	×		*Mira*		×
Celsior	×		*Morse's marke*		×
Cérès		×	*Moscou*	×	
Champion d'Angleterre		×	*Multifreezer*		×
Chancelot	×		*New Era*	×	
CMG 253	×		*New Season*	×	
Combina	×		*Nicolas à feuille d'acacia*	×	
Continental original	×		*Non plus ultra*		×
Dark skin perfection	×		*Nott's Excelsior*		×
Delex	×		*Pacemaker*	×	
Delicatesse	×		*Perfected freezer*		×
Delicatesse improved		×	*Perfected Wales*	×	
Delikat		×	*Premier*		×
Delisa	×		*Premium gem*	×	
281-49 Früh		×	*Pride*	×	
282-49 Spat		×	*Profusion improved*	×	
Director		×	*Profusion ridé*	×	
Dupleix		×	*Progress N° 9*		×
Dwarf alderman		×	*Rainier*	×	
Dwarf defiance		×	*Ridé AR petit grain vert*		×
Dwarf quite content		×	*RN 31*		×
Early bird		×	*Sharpe's canner à grain vert*	×	
Early dwarf	×		*Shasta*		×
Early onward	×		*Shoshone*		×
Early perfection	×		*Small Sieve freezer*	×	
Émeraude	×		*Smaragd*	×	
Euréka	×		*60*		×
Evergreen	×		*Stens*		×
Exquisite		×	*Stratageme improved*		×
Fair beard non pareil		×	*Surprise*		×
Famous		×	*Sweet Alaska*	×	
Foli	×		*Titan*		×
Fordhook wonder	×		*Victory Freezer*		×
Freezonian		×	*28 ALC*		×
Frosty		×	*Wando*		×
Georgy's surprise		×	*Wasatch*	×	
Giant Stride	×		*William Massey*	×	
Glacier		×	*Wisconsin Merit*	×	
Greca		×	*Wisconsin perfection*	×	
Greencrop		×	*World's Record*	×	
Groen Lincoln		×	*Wyola (Nunhem)*		×
G 21		×	*Zenith*	×	
Helda	×		*Zuikerzoete*	×	
Hundredfold		×			×

variété se sont révélées sensibles dans nos essais, mais, d'autres résistantes, ont pu transmettre leur résistance de *Merveille d'Amérique* à *Délice des conserves*. *Délice des conserves* est issu du croisement *Serpette nain cent pour un* × *Serpette nain vert*.

TABLEAU 2

Variétés à grains ronds inscrites au Catalogue

	Chamberlain	Donald Murphy Pierce	Zaumeyer	Stubbs	Hagedorn (Virus 2 du Haricot)
Automobile		S			
Gladiateur	S				
Mansholt GEK	S				
— *PLUK*	S				
Profusion		S			
Superbe de Laxton		R	S		
Unica	S				
Zelka	S				
Variétés à grains ronds anciennes ou étrangères					
Alaska		S	S	S	S
Ameer		S			
Arthur	S	S			
Chancellor	S	S			
Early Blue	S				
First and best		S			
Phénomène			S		
Radio		S			
Variétés Mangetouts					
Dwarf grey sugar		S		S	
Mammoth melting sugar		S		S	
Tall sugar		S			
Variétés à grains ridés inscrites au Catalogue					
Amiral beatty	S				
Gloire de Witham	R				
Gradus	S	S	S	S	
Lincoln			S		
Merveille d'Amérique		R			
Merveille d'Angleterre	R				
Onward	R	R	R		
Petite Merveille	R	R	R		
Progrès de Laxton	S	S	S	S	
Roi des Halles	S	S	S	S	S
Sénateur	S	S	S	S	
Stratagème	S	S	S	S	
Téléphone nain	R				
Téléphone		S	S		
Thomas Laxton	S	S		S	S

TABLEAU 2 *(suite)*

	CHAMBERLAIN	DONALD MURPHY PIERCE	ZAUMEYER	STUBBS	HAGEDORN (Virus 2 du Haricot)
			Variétés à grains ridés anciennes ou étrangères		
Blue bantam	S	S			
British lion		S			
Canner king					R
Champion d'Angleterre		S	S	S	
Dark skin perfection					R
Dwarf alderman	S	S	S		
Dwarf defiance		S			
Dwarf quite content		S	S		
Early bird		R			
Early perfection					R
Famous					R
Giant stride	S	S	S		
Glacier					S
Greencrop	S				
Hundredfold	R	R	R	R	
Icer					S
Morse's market		R			
New Era					R
Nott's excelsior		R	R	R	
Perfected freezer					R
Perfected Wales					S
Premium gem		R	R	S	
Pride					R
Surprise		R	R		
Wasatch					R
William Massey	R				
Wisconsin merit					R
Wisconsin perfection		R		R	R
World's record		S	S		

Serpette nain cent pour un étant sensible, il faut admettre que la résistance de *Délice des conserves* provient de *Merveille d'Amérique* par l'intermédiaire de *Serpette nain vert* non fixé à l'époque du croisement.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats nous ont conduit à admettre que la résistance est monofactorielle récessive.

Nous avons signalé qu'il existait des points communs entre le virus de la Mosaïque commune du Pois et le virus 2 du Haricot. Cette analogie est accrue par les résultats génétiques. En ce qui concerne la sensibilité des variétés au virus de la Mosaïque commune, nos résultats coïncident avec ceux obtenus par HAGEDORN vis-à-vis du virus 2 du Haricot (tabl. 2). L'étude génétique de la résistance aboutit

TABLEAU 3

Les groupes indiqués dans l'étude de la F_3 représentent la descendance d'une plante F_1

F_2 Croisement		Nombre de plantes sensibles	Nombre de plantes résistantes	(3 — 1) χ^2
Diamant × *Relance*	Observé	139	56	
	Théorique	146,25	48,75	1,4
F_3 Croisement		**Nombre de lignées sensibles ou en disjonction**	**Nombre de lignées résistantes**	
Relance × *Mignon*				
1	Observé	56	12	
	Théorique	51	17	1,9
2	Observé	52	20	
	Théorique	54	18	0,3
3	Observé	31	13	
	Théorique	33	11	0,5
Mignon × *Juwel*				
1	Observé	24	12	
	Théorique	27	9	1,3
2	Observé	27	12	
	Théorique	29,25	9,75	0,7
3	Observé	33	18	
	Théorique	38,25	12,75	2,9
Juwel × *Mignon*				
1	Observé	107	27	
	Théorique	100,5	33,5	1,7
Juwel × *Diamant*				
1	Observé	40	16	
	Théorique	42	14	0,4
2	Observé	58	21	
	Théorique	59,25	19,75	0,1
Total	Observé	428	151	
	Théorique	434,25	144,75	0,4

également aux mêmes conclusions. Cette similitude dans les résultats soulève le problème de l'identité des gènes de résistance et celui des souches des deux virus.

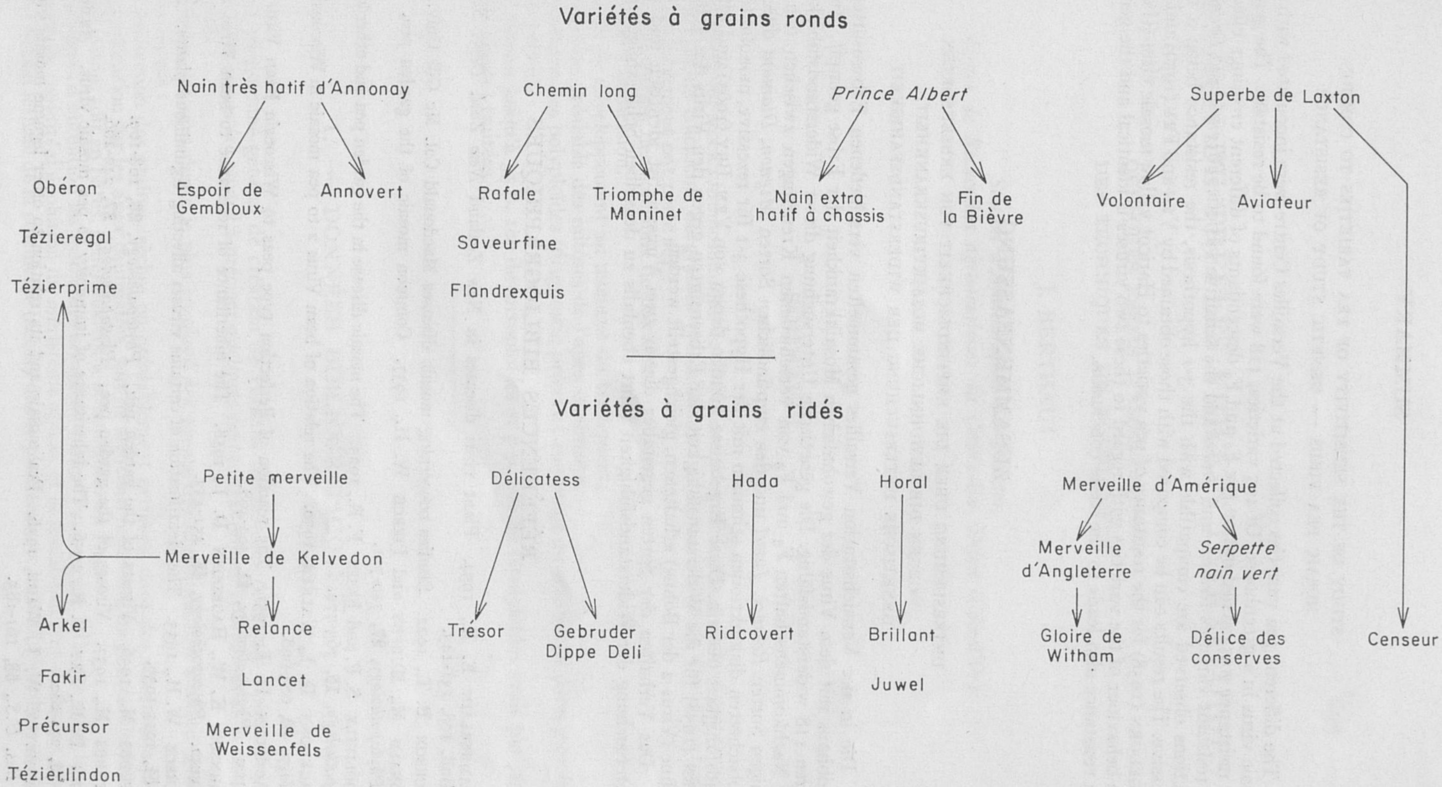
Reçu pour publication en août 1964.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tous les Établissements grainiers français et étrangers qui ont bien voulu nous envoyer des échantillons de leurs variétés.

TABLEAU 4

Généalogie des variétés résistantes inscrites au catalogue français



SUMMARY

STUDY OF THE SENSITIVITY OF PEA VARIETIES TO COMMON MOSAIC PEA VIRUS — GENETIC STUDY OF RESISTANCE

The different pea varieties collected at the Versailles Centre were inoculated with common pea mosaic virus in a greenhouse. Of 405 varieties, 118 were found to be resistant. The genetic study of this resistance was carried out on the F_2 and F_3 descendants of different crossings effected between the resistant varieties *Relance* and *Juwel* and the sensitive varieties *Mignon* and *Diamant*. The disjunctions observed are compatible with the 3-1 hypothesis, the resistance being a monofactorial recessive. The results can be compared with those obtained by YEN and FRY (1956) and JOHNSON and HAGEDORN (1958) for the resistance of pea varieties to Haricot yellow mosaic virus (Haricot virus 2). The behaviour of the varieties with regard to these two viruses is identical and the genetic study of this resistance also leads to the same conclusion.

ZUSAMMENFASSUNG

UNTERSUCHUNG UBER DIE EMPFINDLICHKEIT VON ERBSENSORTEN GEGEN DIE GEWOHNLICHE MOSAIKVIRUSKRANKHEIT. GENETISCHE UNTERSUCHUNG DER WIDERSTANDSFAHIGKEIT

Die in der Versuchsstation Versailles gesammelten verschiedenen Erbsensorten wurden im Treibhaus mit dem Virus der gewöhnlichen Mosaikkrankheit der Erbse geimpft. Auf 405 Sorten, waren 118 widerstandsfähig. Die genetische Untersuchung dieser Widerstandsfähigkeit wurde auf die Nachkommenschaften F_2 und F_3 von verschiedenen Kreuzungen zwischen den widerstandsfähigen Sorten *Relance, Juwel* und den empfindlichen Sorten *Mignon, Diamant* durchgeführt. Die beobachteten disjonktionen stimmen mit der Hypothese 3-1 für rezessive, monofaktorielle Widerstandsfähigkeit überein. Diese Ergebnisse können denen von YEN, BRY (1965) und JOHNSON, HAGEDORN (1958) für die Widerstansfähigkeit der Erbsensorten gegen den Virus des gelben Mosaik der Bohne (Virus 2 der Bohne) erhaltenen, gleichgestellt werden.

Das Verhalten der Sorten gegenüber diesen zwei Virussen ist identisch und die genetische Untersuchung der Widerstandsfähigkeit führt ebenfalls zu denselben Schlussfolgerungen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAMBERLAIN E. E., 1954. Plant virus diseases in New Zealand *New Zeal. Dept. Sci. Industr. Res.* Bull, 108, 131-143.

DICKSON B. T., 1922. Studies concerning mosaic diseases Macdonald Col. Mc Gill Univ., *Tech. Bull* 2.

DONALD M., MURPHY and PIERCE W. H., 1937. Common mosaic of the garden pea, *Pisum sativum* *Phytopathology*, **27**, 710-721.

DOOLITTLE S. P. and JONES F. R., 1925. The mosaic disease in the garden pea and other legumes. *Phytopathology*, **15**, 763-772.

HAGEDORN D. J., WALKER, 1950. The relation of bean Virus 2 to pea mosaic in Wisconsin. *Phytopathology*, **40**, 684-698.

HAGEDORN D. J., 1951. The reaction of Perfection type peas to Wisconsin Bean Virus 2 isolates from pea. *Phytopathology*, **41**, 494-498.

JOHNSON K. W., HAGEDORN D. J., 1958. The inheritance of resistance to bean Virus 2 in Pisum Sativum. *Phytopathology*, **48**, 451-453.

PIERCE W. H., 1935. The identification of certains viruses affecting leguminous plants. *Agric. Res. U.S.*, **51**, 1017-1039.

STUBBS M., 1936. Viroses of the garden pea. *Phytopathology*, **26**, 108-109.

STUBBS M., 1937. Viroses of the garden pea. *Phytopathology*, **27**, 242-266.

YEN D. E., FRY P. R., 1956. The inheritance of immunity to pea mosaic virus. *Austr. J. Agric. Res.* **74**, 272-280.

ZAUMEYER W. J., WADE, 1936. Pea mosaic and its relation to other legume mosaic viruses. *J. Agric. Res. U.S.*, **53**, 161-185.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 37-51.

OBTENTION DE TRÈFLES VIOLETS TÉTRAPLOÏDES

QUELQUES ESSAIS D'AMÉLIORATION DES TECHNIQUES DE DOUBLEMENT

J. BERTHAUT

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques du Centre-Est, Dijon (Côte-d'Or)

SOMMAIRE

Le doublement du stock chromosomique de *Trifolium pratense* L. étant obtenu par immersion dans des solutions de colchicine de graines préalablement germées, les essais d'amélioration des techniques de doublement ont porté sur :

— la concentration des solutions de colchicine utilisées,
— la durée d'immersion,
— le stade de développement au moment du traitement,
— l'activation préalable des mitoses de l'apex caulinaire,
— la détection des polyploïdes (diagnostic précoce ; comptage du nombre de pores germinatifs des grains de pollen).

Il a été obtenu jusqu'à 35 p. 100 de mixoploïdes et 7 p. 100 de tétraploïdes vrais par rapport au nombre de plantes traitées.

I. — DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

Dans un programme général de création de variétés tétraploïdes de Trèfle violet (*Trifolium pratense* L.), nous avons été amené à préciser quelques points concernant l'obtention et la détection des tétraploïdes.

La colchicine est sans doute le plus employé des agents mitoclasiques. On l'utilise généralement de deux façons :

— par immersion des graines, sèches ou préalablement germées, dans des solutions aqueuses,
— par application sur les apex caulinaires, soit de solutions aqueuses, en gouttes ou imbibant un tampon de coton, soit en pâtes, généralement à la lanoline ou à l'agar.

Les techniques d'obtention les meilleures semblent varier d'une espèce à l'autre selon la vitesse de germination, la rapidité d'évolution du méristème apical, et la sensibilité plus ou moins marquée de l'espèce à l'action léthale de la colchicine (action due le plus souvent à l'inhibition de la croissance radiculaire).

Bremer-Reinders et Bremer (1952), cherchant les meilleures méthodes applicables au plus grand nombre d'espèces avaient retenu le traitement de graines, germées préalablement pendant quelques jours, par immersion dans des solutions de colchicine dont les concentrations variaient entre 0,1 et 0,2 p. 100 pendant des temps respectifs de 3 et 2 heures à 27°C. La mortalité était généralement élevée, mais le pourcentage de plantes mixo-ou tétraploïdes chez les survivants assez bon.

En ce qui concerne plus particulièrement l'obtention de tétraploïdes chez le trèfle violet :

Turesson en 1939, ayant essayé deux méthodes, obtient les meilleurs résultats par germination directe des graines dans des solutions de colchicine de concentrations allant de 0,100 à 0,025 p. 100 pendant des temps allant de 5 à 7 jours.

Levan (1940) a essayé avec un certain succès des traitements de graines sèches et germées avec des solutions à 0,001, 0,01, 0,1 et 1 p. 100.

Brewbaker (1952) après divers essais, préfère l'application pendant 8 à 12 heures, de solutions aqueuses à 0,15 p. 100 sur le point végétatif dès son apparition entre les cotylédons.

Miss A. Evans (1954), après une année d'essais préliminaires l'amenant à abandonner les traitements d'apex avec une pâte à l'agar, obtient :

— par immersion de 10 heures dans une solution aqueuse à 0,2 p. 100 de graines préalablement germées, 8 p. 100 et 2 p. 100 de tétraploïdes selon l'origine génétique ;

TABLEAU I

Résultats obtenus par immersion dans une solution de colchicine à 0,2 p. 100
Les rendements en polyploïdes selon la durée de germination préalable n'ont pas été donnés séparément
(D'après L. Banyai)

Durée de la germination préalable	Immersion de 6 heures			Immersion de 12 heures			Immersion de 24 heures		
	Mortalité au repiquage (%)	Rendement en mixo ou tétraploïdes par rapport aux plantes traitées (%)	Rendement en mixo ou tétraploïdes par rapport aux survivantes (%)	Mortalité au repiquage (%)	Rendement en mixo ou tétraploïdes par rapport aux plantes traitées (%)	Rendement en mixo ou tétraploïdes par rapport aux survivantes (%)	Mortalité au repiquage (%)	Rendement en mixo ou tétraploïdes par rapport aux plantes traitées (%)	Rendement en mixo ou tétraploïdes par rapport aux survivantes (%)
15 heures.....	76	8,5	12,0	25	16,5	43,0	90	10	100
20 heures.....	70			52			84	16	100

— par traitement des apex caulinaires avec un coton imbibé de solution à 0,2 p. 100 (dès dégagement des cotylédons) : 12 p. 100 et 6 p. 100 de tétraploïdes (2 gouttes toutes les 3 heures diurnes pendant 6 jours).

— par immersion des apex caulinaires seuls (par retournement des plantules), dans une solution à 0,2 p. 100 pendant 1 h 30, suivie d'un traitement par gouttes comme ci-dessus pendant 2 jours 7 p. 100 et 5 p. 100 de tétraploïdes.

Marie Bragdo (1954) obtient :

— par immersion dans une solution à 0,2 p. 100 pendant 48 heures de graines germées préalablement pendant 48 heures : 12 p. 100 de tétraploïdes (58,9 p. 100 des plantes survivantes).

— par application de pâte à l'agar sur les apex : 6 p. 100 de tétraploïdes seulement.

De Roo (1955) après une série très méthodique d'essais traite des graines, germées préalablement jusqu'au stade 5 à 10 mm de longueur de radicule, par immersion dans des solutions aqueuses de concentrations allant de 0,1 à 0,5 p. 100 de colchicine pendant des temps allant de 30 à 60 minutes sous vide partiel et à 24°C.

Il obtient les meilleurs résultats avec la concentration de 0,1 p. 100 et le temps de 40 minutes : 12 p. 100 de tétraploïdes.

Speckmann (1958), immergeant des graines (sans doute germées préalablement) dans des solutions de colchicine de concentrations allant de 0,05 à 0,2 p. 100 pendant des temps allant de 2 à 22 heures obtient les meilleurs résultats avec la concentration de 0,2 p. 100 et la durée de 8 heures : 25 p. 100 de mixoploïdes sur les survivants et 5 p. 100 de tétraploïdes complets.

BANYAI (1962) obtient :

— par traitement très prolongé des apex caulinaires à partir du stade 3 feuilles (instillation par aiguille à injection entre les jeunes feuilles) : 13,2 à 17,2 p. 100 de plantes ayant une tige tétraploïde parmi les survivantes (soit 9,4 et 15,7 p. 100 des plantes traitées).

— par traitement de graines, germées préalablement pendant 15 et 20 heures, par immersion pendant 24 heures dans une solution de colchicine à 1,0 p. 100, une mortalité de 96 et 98 p. 100, la totalité des plantes survivantes étant entièrement tétraploïdes,

— par traitement par immersion pendant 6, 12 et 24 heures dans une solution de colchicine à 0,2 p. 100. de graines germées préalablement pendant 15 et 20 heures, les résultats donnés au tableau 1.

L'auteur donne la préférence à l'immersion, pensant que les résultats donnés par une immersion de 6 heures sont insuffisants et que la mortalité consécutive à une immersion de 24 heures est trop élevée.

II. — BUT POURSUIVIS

Après avoir pris connaissance de ces essais d'induction de polyploïdie chez le Trèfle violet, nous avons pensé que la meilleure méthode pour produire un assez grand nombre de sujets polyploïdes devait être l'immersion, après germination préalable, de jeunes plantules dans une solution de colchicine. La lecture des conclusions des différents auteurs et quelques travaux préliminaires nous ont fait penser:

1° que l'effet stathmocinétique de la colchicine s'accompagne d'un effet toxique qui devient prédominant aux concentrations élevées,

2° qu'à des concentrations plus modérées, permettant de limiter la mortalité, on observe souvent un taux de réussite peu élevé et l'obtention presque exclusive de chimères mixoploïdes,

3° que l'augmentation de la durée du traitement peut dans une certaine mesure compenser l'abaissement de la concentration des solutions utilisées, et inversement,

4° que le matériel traité reste délicat pendant plusieurs mois à la suite de l'ébranlement subi, ce qui peut provoquer une mortalité assez importante.

« Le but d'un traitement à la colchicine étant d'obtenir un grand nombre de plantes survivantes avec un haut pourcentage d'individus complètement tétraploïdes » (SPECKMANN), nous avons pensé qu'il convenait, dans des conditions aussi précises que possible, de déterminer :

— un temps de traitement optimum permettant de limiter la mortalité;

— une concentration en colchicine optima pour obtenir un rendement en tétraploïdes aussi élevé que possible sans atteindre le seuil de toxicité;

— un stade de développement de la plantule au moment du traitement suffisamment précoce pour limiter le nombre des chimères mixoploïdes.

Nous avons pensé que des soins appropriés pouvaient contribuer à diminuer le taux de mortalité tardive généralement observé, et nous avons voulu enfin mettre au point une méthode de contrôle des résultats à la fois rapide et efficace.

III. — MÉTHODES DE TRAVAIL

Traitement à la colchicine.

— Germination sur papier humide en boîtes de Pétri pendant un temps contrôlé à 23-24°.
— Immersion dans une solution de colchicine de concentration déterminée.
— Rinçage des plantules à l'eau distillée (3 ou 4 eaux).
— Repiquage en serre à 20°C.

Étude du comportement en terrines.

— Notations des réactions morphologiques.
— Repiquage en pépinières pour contrôle définitif des résultats.

Contrôle des résultats.

Il se fait par examen du pollen selon la technique recommandée par FUNKE et qui consiste à mettre en évidence le nombre de pores germinatifs des grains de pollen en les plaçant dans un mélange d'acide sulfurique concentré (1 partie) et d'acide acétique à 3 p. 100 (2 parties) additionné d'une solution aqueuse de bleu de méthylène (1cc de solution de bleu de méthylène à 1 p. 100 dans 100 cc de mélange d'acides). Dans ce milieu, l'intine est détruite au niveau des pores germinatifs, le protoplasme se gonfle et sort par tous les pores sous forme d'appendices claviformes ; leur comptage, très aisé, renseigne sur le nombre de pores germinatifs du pollen.

Une étude de LACZINSKA-HULEWICZ (1963) a montré que la polyploïdie du trèfle violet s'accompagne d'un accroissement du nombre de pores germinatifs, les proportions étant les suivantes :

TABLEAU 2

Influence de la ploïdie sur le nombre de pores germinatifs des grains de pollen
(d'après LACZINSKA-HULEWICZ et MACKIEWITZ)

	Pourcentage de grains de pollen			
	à 3 pores	à 4 pores	à 5 pores	à 6 pores
Trèfle violet diploïde	100	—	—	—
Trèfle violet tétraploïde ..	6,0	44,5	24,5	25,0

Les figures 1 à 3 montrent au même grossissement des grains de pollen à 3, à 4 et à 6 pores germinatifs, les figures 4 et 5 des préparations de pollen de plantes diploïdes et tétraploïdes.

L'examen porte sur une inflorescence par rameau principal. Toutes précautions étant prises pour éviter les erreurs (choix de fleurs non visitées — nettoyage à l'alcool de l'aiguille servant à prélever le pollen), on considère comme tétraploïde tout rameau dont le pollen contient moins de 20 p. 100 de grains à 3 pores. (Pourcentage tenant compte d'une part de la maturité variable et souvent hétérogène du pollen qui cause un éclatement incomplet de certains grains, et d'autre part des conditions d'observation qui font que tous les pores ne sont pas toujours visibles).

IV. — RÉSULTATS

1. — *Diminution de la mortalité au cours de la végétation des plantes traitées*

L'isothermie des opérations de germination préalable, du traitement, et du premier repiquage, la transplantation temporaire en godets acclimatés d'abord en serre et permettant la mise en place définitive en mottes dans la pépinière, ont permis de réduire la mortalité après reprise de 10,1 p. 100 à 2,28 p. 100.

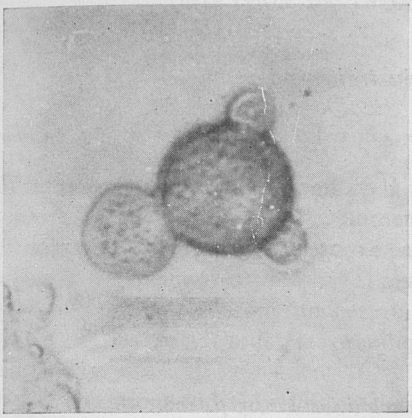


FIG. 1. — *Grain de pollen à 3 pores*

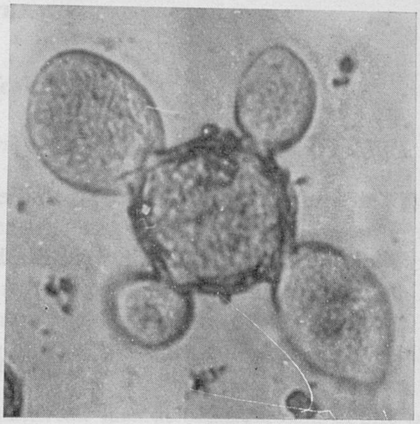


FIG. 2. — *Grain de pollen à 4 pores*

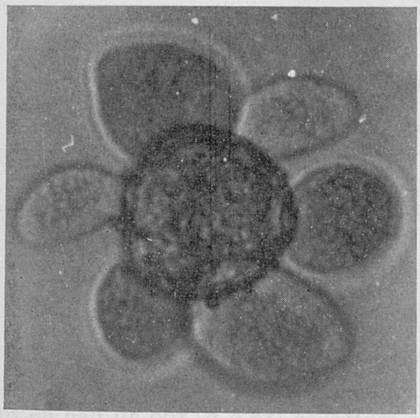


FIG. 3. — *Grain de pollen à 6 pores*

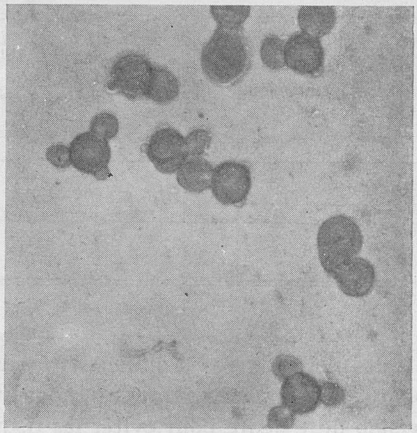


FIG. 4. — *Vue partielle d'une préparation montrant du pollen de plante diploïde*

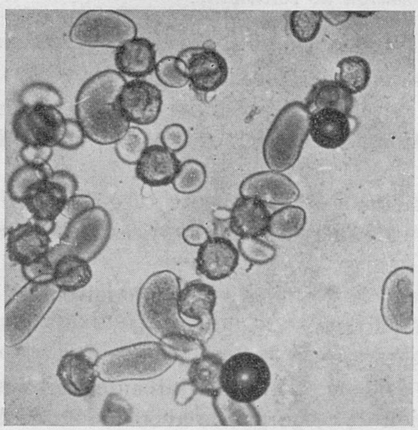


FIG. 5. — *Vue partielle d'une préparation montrant du pollen de plante tétraploïde*

2. — *Conditions du traitement*

a) *Durée du traitement.*

Durée de la germination préalable : 78 à 80 heures (plantules mesurant 12 à 16 mm).

Concentration de la solution de colchicine : 0,05 p. 100 (soit 50×10^{-5}).

Durée d'immersion : 1 heure et 2 heures.

TABLEAU 3

Immersion dans une solution de colchicine à 0,05 p. 100.
Influence de la durée d'immersion sur la mortalité et le rendement en polyploïdes
(Tous les pourcentages indiqués se rapportent au nombre total des plantes traitées)

Durée de l'immersion	Nombre de plantes traitées	Mortalité après 21 jours (%)	Mortalité après 5 mois (%)	Plantes mixo + tétraploïdes	
				Nombre	Pourcentage
1 heure	185	6,4	17,9	28	15,1
2 heures............	216	14,7	30,4	36	16,6

Ces deux durées d'immersion ayant donné des résultats très voisins (15,1 et 16,6 p. 100 des plantes traitées), nous avons, l'année suivante, préféré le temps d'immersion de 1 heure pour éviter les risques de mortalité (17,9 p. 100 au lieu de 30,4 p. 100).

b) *Concentration de la solution de colchicine.*
Stade du traitement (*durée de la prégermination*).

Entrepris l'année suivante, cet essai porte sur :

— deux durées de germination préalable : 48 et 72 heures ;

— deux concentrations de colchicine : 0,025 p. 100 et 0,050 p. 100 (soit 25×10^{-5} et 50×10^{-5}).

La durée de l'immersion a été de 1 heure avec action progressive du vide (pression résiduelle de 10 cm de mercure) à 3 reprises avec retours lents à la pression atmosphérique.

Température pendant la germination et le traitement : 23-24°C.

100 plantes traitées par lots.

(Voir tableau 5, lignes 5, 6, 7 et 8.)

Ce tableau met en évidence pour une durée de traitement de 1 heure, la supériorité de la concentration de 0,050 p. 100 avec une durée de germination préalable de 48 heures.

3. — *Dépistage des polyploïdes*

a) *Diagnostic précoce par examen des réactions morphologiques.*

Dans le premier mois qui suit le traitement, les plantules, repiquées à intervalles réguliers et en lignes suffisamment espacées dans des terrines placées en serre, sont examinées sous l'angle de leur comportement morphologique. Un certain nombre périclitent de façon très précoce. D'autres, ne présentent aucune déformation. Les dernières, enfin, présentent un certain nombre de déformations atteignant : l'axe hypocotylé, les cotylédons, la première feuille peltinervée et la première feuille trifoliée (fig. 6 à 11).

Des notations individuelles concernant chacune de ces déformations n'ont pas permis de conclure que l'une ou l'autre pouvait être un indice de réussite du doublement chromosomique.

TABLEAU 4

Pourcentage de plantes polyploïdes dans différentes catégories de plantes classées selon leurs réactions morphologiques précoces.
(Année 1962)

Traitement de graines prégermées pendant 72 à 80 heures. Immersion de 1 à 2 heures dans une solution aqueuse à 0,050 % de colchicine sous la pression atmosphérique	Nombre de plantes	P. 100 du total traité	Nombre de plantes mixo + tétraploïdes	% de polyploïdes dans la catégorie
Traitées	584			
Normales	171	29,3	3 + 0	1,75
Faiblement atteintes	127	21,7	26 + 0	20,47
Fortement atteintes	212	36,3	56 + 4	28,30
Disparues	74	12,7		

Par contre, le classement des plantes survivantes en trois catégories suivant *l'intensité* des déformations (Plantes normales, n'ayant pas réagi — Plantes faiblement atteintes, à déformations peu accusées, ou fugaces — Plantes fortement atteintes, à déformations très accusées et persistant plus longtemps) a permis d'établir en 1962 ainsi que le montre le tableau 4, que la proportion de polyploïdes dans la première catégorie est pratiquement nulle, et plus élevée dans la troisième catégorie que dans la seconde.

Ce classement peut donc permettre, après examen en serre, de ne repiquer en pépinière que les plantes qui ont présenté des déformations, ce qui allège d'autant le travail d'examen du pollen.

Cette constatation a permis l'année suivante d'analyser rapidement les résultats d'un essai de durée de germination préalable, ainsi que le montrent les 8 premières lignes du tableau 5 : l'examen de la colonne 7 indique que les durées de 12 et 24 heures sont insuffisantes (les plantes provenant de ces traitements n'ont pas été repiquées en champ) ; pour les durées de 48 et 72 heures on peut rapprocher les chiffres des colonnes 8 et 9 de ceux de la colonne 7.

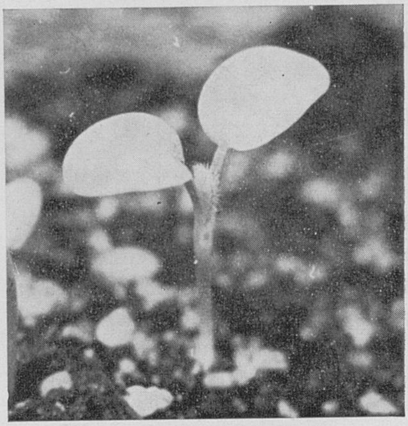


FIG. 6. — *Plantule non traitée.*
Dégagement de la première feuille peltinervée

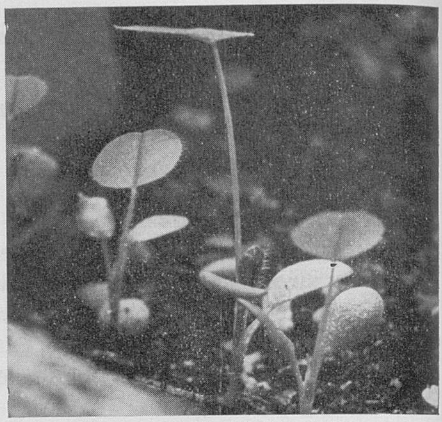


FIG. 7. — *Plantule non traitée.*
Dégagement de la première feuille trifoliée

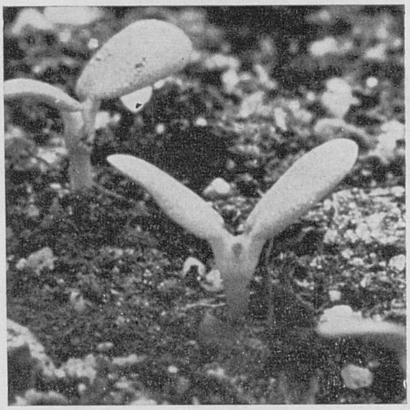


FIG. 8. — *Plantule atteinte.*
(Noter le renflement des cotylédons,
le gonflement à la base des cotylédons
et le retard de dégagement
de la première feuille peltivernée)

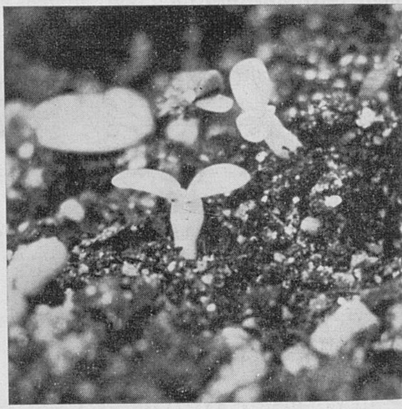


FIG. 9. — *Plantule très fortement atteinte.*
Cotylédons renflés et énorme gonflement de
l'axe hypocotylé.
Le développement de la première feuille
semble complètement stoppé

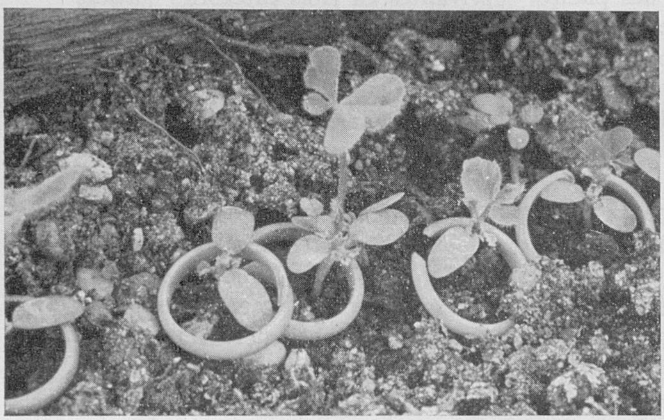


FIG. 10. — *Types de plantules diversement déformées*

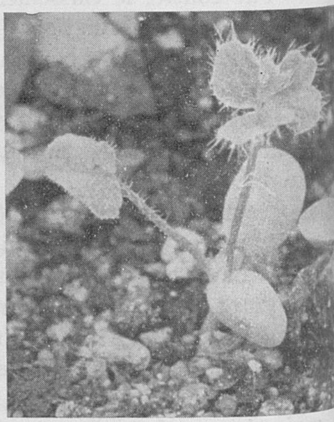


FIG. 11. — *Déformations sur plantul*
(Noter la pilosité anormale et la foli
supplémentaire de la première feuille tri

TABLEAU 5

Essais de différentes durées de germination préalable et de deux concentrations de la solution de colchicine. Diagnostic précoce par examen des réactions morphologiques des plantes (Années 1962 et 1963)
(La durée d'immersion dans la solution de colchicine a été de 1 heure)

Nature des traitements			Pourcentage				Rendement	
Durée de germination préalable (en heures)	Concentration de la solution de colchicine (%)	Conditions de pression	de mortalité	de plantes faiblement atteintes	de plantes fortement atteintes	total de plantes ayant réagi	en mixo + tétraploïdes	en tétraploïdes vrais
1	2	3	4	5	6	7	8	9
12	0,025	vide partiel				14		
12	0,050	vide partiel				15		
24	0,025	vide partiel				27		
24	0,050	vide partiel				48		
48	0,025	vide partiel	8	41	15	56	27	2
48	0,050	vide partiel	2	20	61	81	35	7
72	0,025	vide partiel	1	17	19	36	5	0
72	0,050	vide partiel	4	19	47	66	28	2
72-80	0,050	pression atmosphérique		21,7	36,3	58,0	15,2	0,7

L'efficacité d'un traitement peut donc être évaluée approximativement par le pourcentage de plantes présentant des déformations précoces.

b) *Confirmation des résultats par examen du pollen.*

Comme il a été dit plus haut, il a été examiné un capitule par rameau principal (issu directement de la souche).

L'analyse complète des résultats enregistrés en première année a été résumée

TABLEAU 6

Confirmation des résultats par examen du pollen
(un capitule par rameau principal)

		Répartition des plantes par catégorie			Totaux	Pourcentages	Pourcentages cumulés
		fortement atteintes	faiblement atteintes	normales			
Rang du premier rameau trouvé tétraploïde (par ordre chronologique d'examen)	1	19 + 4*	5	1	29	32,6	32,6
	2	7	3		10	11,2	43,8
	3	6	3		9	10,1	53,9
	4	6	3		9	10,1	64,0
	5	7	2	1	10	11,2	75,2
	6	5	1		6	6,7	81,9
	7	3	2		5	5,6	87,5
	8	2	2		4	4,5	92,0
	9		2		2	2,3	94,3
	10		1	1	2	2,3	96,6
	11		1		1	1,1	97,7
	12		1		1	1,1	98,8
	13						
	14	1			1	1,1	100
Totaux		60	26	3	89	100	
Répartition des polyploïdes par catégorie		67,4	29,2	3,4	100		
Nombre total de plantes en champ		174	111	166	451		
Nombre de plantes observées**		154	97	157	408		
Pourcentage de polyploïdes surn le nombre de plantes observées		39,0	26,8	1,9	21,8		

* 4 plantes entièrement tétraploïdes.
** Autres plantes trop tardives n'ayant pas fleuri.

dans le tableau 6, dont la partie supérieure indique le nombre de rameaux examinés par plante avant d'en trouver un tétraploïde.

On peut ainsi voir que 92 p. 100 des plantes polyploïdes ont été détectées avant

examen du neuvième rameau, et 96,6 p. 100 avant examen du onzième rameau, Ces chiffres de 8 à 10 rameaux à examiner par plante peuvent être retenus dans la pratique, puisqu'ils ne conduisent à omettre que 3,4 à 8 p. 100 des mixoploïdes.

La partie inférieure du tableau 6 confirme l'intérêt du classement des plantes en trois catégories selon l'intensité des réactions morphologiques.

4. — *Obtention d'une proportion accrue de tétraploïdes vrais*

a) *Par traitement à un stade de développement plus jeune.*

La réduction de la durée de germination préalable de 72 heures à 48 heures permet d'augmenter notablement le rendement en tétraploïdes vrais en même temps que le rendement global.

Si on diminue jusqu'à 24 ou 12 heures, l'activité mitotique des plantes semble être encore insuffisante pour que l'action de la colchicine se manifeste efficacement (tabl. 5).

b) *Par activation préalable des mitoses.*

Il semble évident que l'action de la colchicine est d'autant plus efficace que l'activité mitotique des tissus est intense. L'obtention de chimères mixoploïdes semble due :

— soit à une application trop tardive de l'agent mitoclasique, alors qu'un certain nombre d'initiums diploïdes existent déjà, (il semble alors dans ce cas que les massifs cellulaires diploïdes déjà formés prennent le dessus sur les cellules tétraploïdes issues du traitement) ;

— soit à la lenteur du rythme des premières mitoses, faisant que certains secteurs échappent à l'action de la colchicine.

Il paraît donc intéressant de pouvoir activer les mitoses au moment de l'application d'un traitement.

A cet effet, nous avons étudié l'action sur l'activité mitotique de l'apex caulinaire du trèfle violet des combinaisons de substances suivantes :

Kinétine + Auxine [1]
Kinétine + Gibbérelline
Kinétine + Gibbérelline + Auxine [1]

aux concentrations de 5×10^{-7}, 1×10^{-6} et 5×10^{-5}

Ces solutions ont été utilisées pour imbiber les papiers-filtres des boîtes de Petri pendant la germination.

Dans une étude préliminaire, des graines ont été mises à germer sur ces solutions, avec un témoin sur eau distillée comparativement à la lumière continue et à l'obscurité permanente à la température de 24°C.

L'estimation de l'activité mitotique a été faite, après des temps de germination variables, par écrasement de l'apex caulinaire, prélevé après fixation et coloration à l'orcéine acétique. Le dénombrement des cellules en division a été effectué sur la totalité du méristème apical.

(1) Acide β-indole-acétique.

Ce dénombrement est assez long, mais il rend compte non seulement de l'activité mitotique au moment de la fixation, mais aussi du stade d'évolution.

Nous avons pu ainsi observer que les mitoses étaient beaucoup plus nombreuses chez les plantes éclairées que chez les plantes à l'ombre, aussi bien chez le témoin à l'eau distillée que chez les plantes germant sur solutions KA, KG et KGA [2]. L'écart est moindre sur eau distillée et plus accusé sur les solutions employées.

Par exemple, aux concentrations de 10^{-6} pour chacune des substances, après 54 heures de germination on dénombre les figures de division suivantes dans les méristèmes apicaux :

TABLEAU 7

Activation des mitoses — Influence de l'ombre et de la lumière.
Action de diverses combinaisons de substances.
Nombre moyen de figures de division dans le méristème apical

	Eau distillée		KA		KG		KGA	
	Nombre	% du témoin	Nombre	% du témoin	Nombre	% du témoin	Nombre	% du témoin
Ombre	94 (témoin)	100	22	23,4	16	17,0	43	45,7
Lumière	132	140,4	138	146,8	137	145,7	151	160,6

KA = Kinétine + Auxine.
KG = Kinétine + Gibbérelline.
KGA = Kinétine + Gibbérelline + Auxine.

Ayant choisi la germination en lumière continue, qui semble favoriser les mitoses, nous avons pu noter qu'au bout de 47 heures le nombre de cellules en division chez les apex de plantes cultivées sur KGA à 10^{-6} était, comparé au nombre de cellules en division dans les apex de plantes cultivées sur eau distillée, de 380 p. 100 (échantillons de 10 plantes par catégorie).

Pensant avoir trouvé des conditions favorables à la réussite des traitements à la colchicine, nous avons effectué des traitements après 46 heures et 53 heures de germination (le traitement durant 1 heure, nous avons supposé que l'imprégnation des tissus prolonge pendant un certain temps, l'action des substances utilisées).

Le méristème apical se trouvant en activité mitotique intense, nous avons pensé que des concentrations de colchicine plus faibles, telles que 0,010 p. 100 et 0,025 p. 100 pourraient être actives.

Les résultats de ces essais sont donnés dans le tableau 8.

Les résultats obtenus sont inférieurs à ce que nous espérions. En fait, les concentrations des solutions de colchicine utilisées ont été insuffisantes, notamment la concentration de 0,010 p. 100.

(2) Kinétine Auxine, Kinétine Gibberelline et Kinétine Gibberelline Auxine.

On peut noter toutefois qu'en utilisant une concentration de 0,025 p. 100, des plantes germées pendant 46 heures sur KGA à 10^{-6} donnent autant de tétraploïdes vrais que de mixoploïdes, et que la proportion de 5 p. 100 de tétraploïdes vrais est très proche de celle de 7 p. 100 obtenue après 48 heures de germination sur eau distillée en utilisant une concentration en colchicine de 0,050 p. 100.

Ces essais devront être poursuivis en utilisant des concentrations en colchicine plus élevées. L'étude de l'activité mitotique du méristème apical du trèfle violet devra également être reprise de façon plus précise en tenant compte de l'hétérogénéité des semences (maturité des graines — volume de l'embryon — stade de développement de l'embryon) et en prenant les précautions que cette hétérogénéité rend nécessaires : importance des échantillons — tris successifs.

TABLEAU 8

Essai de production de polyploïdes avec deux milieux de germination différents, deux temps de germination préalables et deux concentrations de la solution de colchicine.
(*Lots de 100 plantes*)

Conditions générales des traitements :
— Germination à 24°C en éclairage continu — (Les résultats donnés au tableau 5 correspondent à une germination en éclairage naturel, soumise au photopériodisme) — Immersion dans la solution de colchicine pendant 1 heure avec vide partiel

Milieu de germination	Temps de germination (heures)	Concentration de la solution de colchicine (%)	Mixoploïdes	Tétraploïdes	Total
KGA 10^{-6}	46	0,010	1	0	1
KGA 10^{-6}	46	0,025	5	5	10
KGA 10^{-6}	53	0,010	0	0	0
KGA 10^{-6}	53	0,025	0	1	1
Eau	53	0,010	0	0	0
Eau	53	0,025	1	0	1

CONCLUSIONS

Ces premiers essais d'amélioration des traitements du trèfle violet à la colchicine ont permis :

— de porter le pourcentage de polyploïdes jusqu'à 35 p. 100 des plantes traitées, dont 7 p. 100 de tétraploïdes vrais, tout en limitant la mortalité à un très faible pourcentage ;

— d'entrevoir la possibilité d'accroître la proportion de tétraploïdes complets par activation des mitoses ;

— de perfectionner et de tester les méthodes de détection des polyploïdes, par

un diagnostic précoce basé sur les premières réactions morphologiques de la plantule, qui permet un premier tri, et par un examen du pollen limité à 8 rameaux par plante qui permet de retenir finalement 92 p. 100 des polyploïdes produits.

Les plantes ou rameaux reconnus tétraploïdes sont immédiatement utilisables en croisements pour l'obtention de semences. Le niveau de ploïdie des plantes issues de ces croisements est contrôlé par un comptage des chromosomes dans le méristème radiculaire.

Il semble dès maintenant que les résultats atteints soient susceptibles d'être largement dépassés.

La durée du traitement de tous ces essais a été arbitrairement fixée à 1 heure à la suite de l'essai préliminaire à la pression atmosphérique, avec une concentration de la solution de colchicine de 0,050 p. 100, en raison de la mortalité nettement plus élevée provoquée par un traitement de 2 heures (30,4 p. 100 au lieu de 17,9 p. 100). Mais les rendements en polyploïdes de ces deux traitements ont été très voisins avec un léger avantage pour le traitement de 2 heures (16,6 p. 100 contre 15,1 p. 100).

On peut donc envisager des durées de traitement plus longues, d'autant plus que nous avons pu réduire partiellement la mortalité par des soins appropriés.

Traitant des plantules de Vaccinium par immersion pendant 7 jours dans une solution aérée de colchicine, AALDERS et HAAL signalent des rendements de 100 p. 100 de polyploïdes chez les survivants dont 50 p. 100 de tétraploïdes complets, ayant ainsi atteint ce qui constitue notre but. Sur le trèfle violet, les premiers essais de traitements en solutions aérées aux concentrations de 0,050 p. 100, 0,100 p. 100 et 0,200 p. 100 prolongés pendant 48 heures (après germination préalable de 48 heures) nous ont conduit à une mortalité de 100 p. 100. Les témoins immergés dans l'eau ayant parfaitement survécu, il ne peut s'agir d'un effet d'asphyxie, mais bien d'un effet dû à la concentration de la colchicine. Le développement radiculaire a été complètement inhibé chez les plantules traitées, alors que l'aération semble avoir stimulé le développement radiculaire chez les plantules témoins.

Il y aura donc lieu d'essayer des concentrations plus faibles, ou des durées plus courtes. L'emploi de substances rhizogènes limitant l'inhibition radiculaire permettrait peut-être de maintenir des concentrations et des durées élevées.

Une mise au point des méthodes d'activation des mitoses pourra sans doute nous aider à accroître les proportions de tétraploïdes complets.

Ces deux directions de travail seront développées dans un avenir immédiat.

Reçu pour publication en août 1964.

SUMMARY

THE PRODUCTION OF TETRAPLOID RED CLOVER. EXPERIMENTS ON IMPROVING DOUBLING TECHNIQUES

The chromosomic stock of *Trifolium pratense* L. is doubled by the immersion of previously germinated seeds in solutions of colchicine. The experiments on improving doubling techniques dealt with

— the concentration of the colchicine solution,
— the duration of immersion,

— the stage of development at the time of testing,
— the preliminary stimulation of mitosis in the cauline apex,
— the detection of polyploids (early diagnosis ; counting the number of germinal pores in the pollen grains).

Of all the plants treated, as many as 35 p. 100 were mixoploids and 7 p. 100 true tretraploids.

ZUSAMMENFASSUNG

ZUCHTUNG VON TETRAPLOÏDEN SORTEN VON ROTKLEE

Einige Verbesserungsversuche des Verdopplungsverfahrens.

Bei Anwendung des Verdopplungsverfahrens durch Untertauchen von vorher gekeimten Saaten des Chromosombestandes *Trifolium pratense* L. in Colchizinlösungen betrafen die Versuche zur Verbesserung dieser Techniken :

— die Konzentrierung der gebrauchten Colchizinlösungen ;
— die Dauer des Untertauchens ;
— die Entwicklungsstufe im Augenblick der Behandlung ;
— die vorherige Aktivierung der Mitosen der laubtragenden Stengelspitze ;
— die Auffindung der Polyploïde (frühzeitige Diagnostik ; Zählung der Anzahl von keimfähigen Poren der Pollenkörner).

Es wurden bis zu 35 p. 100 Mixoploïde und 7 p. 100 echte Tetraploïde im Verhältnis zur Anzahl der behandelten Pflanzen erhalten.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AALDERS L. E., HALL I. V., 1963. Aération of colchicine solution in the treatment of blueberry seeds to induce poplyploïdy. *Canad. J. Plant Sci.*, **43**, nº 1, 107.

BANYAI L., 1962. Polyploïdisation de quelques espèces de *Trifolium* par traitements à la colchicine (en hongrois). *Agrobotanika*, **4**, 205-214.

BRAGDO M., 1955. Production of polyploïds by colchicine. *Euphytica*, **4**, 76-82.

BREMER-REINDERS D. E., BREMER G., 1952. Methods used for producing polyploïd agricultural plants· *Euphytica*, **1**, 87-94.

BREWBAKER J. L., 1952. Colchicine induction in *Trifolium* species. *Agron. J.*, **44**, 592-94.

DE ROO R., 1952. L'induction de tétraploïdie chez quelques plantes fourragères au moyen de colchicine (en néerlandais). *Meded. Landb. Hogesch. Gent.*, **17**, 281-92.

DE ROO R., 1955. L'induction de tétraploïdie chez quelques plantes fourragères au moyen de colchicine-II (en néerlandais). *Meded. Landb. Hogesch. Gent.*, **20**, 181-91.

EVANS A. M., 1955. The production and identification of polyploïds in red clover, white clover and lucerne. *New Phytol.*, **54**, 149-162.

FUNKE Ch., 1956. Vergleichende morphologische und physiologische Untersuchungen am Pollen diploïder und autotetraploïder Kulturpflanzen. *Zeitschrift für Pflanzenzuchtung.* **36**, 2, 165-196.

LACZINSKA-HULEWICZ T., MACKIEWICZ T., 1963. Pollenfertilität und Pollenschlauchwachstum bei di und tetraploiden Rotklee. *Züchter*, **33**, 1, 11-17.

LEVAN A., 1960. Création de Trèfles violets tétraploïdes (en suédois). *Sveriges Utsüdesförenings Tidskr.*, 1940. 115-124.

ROSEN (G. von), 1946. Chromosome determination in root tips and leaves by the rapid orcein method. *Hereditas*, **32**, 1, 129-130.

SPECKMANN G. J., 1959. Some technical aspects of the production of polyploïds in fodder crops. *Genet. Agric.*, **11**, 122-143.

TURESSON G., 1962. Results of colchicine doubling in the red, alsike and white clover. *Agric. Hortique Genetica*, **20**, 3-4, 111-135.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 53-60.

VARIATION DE LA LONGUEUR DE TIGE ET RÉALISATION D'UN STADE DE DÉVELOPPEMENT CHEZ LES GRAMINÉES FOURRAGÈRES

Paul MANSAT

Station d'Amélioration des Plantes fourragères, Lusignan (Vienne)

SOMMAIRE

A la suite d'observations en champs, une étude de la variation de la longueur de tige à un stade d'évolution de l'apex a été entreprise. Il ressort que l'année, la date de semis, la densité d'installation, la précocité, la variété, influent fortement sur l'élongation de la tige, indépendamment de modifications de l'apex. Plusieurs techniques d'échantillonnage sont comparées.

INTRODUCTION

Les printemps tardifs de 1962 et 1963 ont mis l'accent sur la non concomitance qui peut exister entre l'élongation de la tige et la réalisation des stades du développement, en conditions naturelles. Les cultivars précoces de diverses espèces de graminées fourragères ((*Dactyle* en particulier) ont émis, au premier cycle, des épis à 10-15 cm au-dessus du sol. L'épiaison eut pratiquement lieu au démarrage de la végétation.

Nous avons porté notre intérêt sur l'analyse de ce phénomène et, par cette note, nous nous proposons d'une part, de mettre en évidence une telle variation de la longueur de tige lors de la réalisation d'un stade, d'autre part, de présenter une technique d'échantillonnage peu sensible à certaines fluctuations.

Les résultats rassemblés ici ont été extraits des travaux effectués par les membres de la section du groupe de travail des Plantes Fourragères de l'I.N.R.A. : « Physiologie de l'exploitation des Graminées. » L'auteur à titre de responsable a eu pour tâche de synthétiser et présenter l'ensemble.

Avant d'aborder le sujet, il convient de préciser quels sont les repères morpho-

logiques utilisés par l'ensemble des membres du groupe pour définir les stades du développement des graminées fourragères. Ils sont les suivants :

1° A : Apparition d'une alternance de bandes claires et sombres sous l'apex, nœuds et entre-nœuds d'une tige. L'apex lui-même est végétatif, il émet des ébauches foliaires.

2° Modifications de l'Apex :

D R : Double-Ride. Formation sur l'apex de bourrelets, bourgeons d'épillets ou ramifications, à l'aisselle d'ébauches foliaires existantes et peu développées.

B : Apparition de la première pièce florale, la glume, sous forme d'un bourrelet sur la ramification ou le bourgeon d'épillet précédemment formé.

C : Formation des anthères.

C' : Formation de l'ovaire.

E : Épiaison.

Fl : Floraison.

Nos observations ont porté sur le stade B. Ce repère, ou plus avant celui de la Double-Ride, marque la fin visible de la période d'initiation et le début de la formation des organes floraux. Il se situe dans la phase active de végétation printanière.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les données proviennent des sources suivantes :

a) Études de la variation du tallage au cours du premier cycle.

b) Étude de l'influence des dates de semis sur la production de graines,

c) Examens comparatifs des dates de départ en végétation de différents cultivars.

Toutes les observations ont été effectuées sur le premier cycle de pousse annuel que les semis aient eu lieu à l'automne (Dactyle, Fétuques des prés, Ray-Grass I) ou printemps précédent (Fétuques élevées, Fléoles, Ray-Grass). Les plantes étaient installées en diverses conditions : grands espacements (pépinière de sélection, études spéciales 10 cm × 60 cm, production grainière), simulation de prairies(2 cm × 20 cm), parcelles à densité normale.

Pour effectuer un prélèvement sur une plante en pépinière, l'opérateur enfonce sa main à l'intérieur de la touffe et arrache une talle parmi les plus importantes. La talle doit posséder des racines afin d'être assuré que le plateau de tallage est resté intact.

Pour mesurer les tiges et observer les stades de l'apex, les talles sont fendues longitudinalement avec une lame de rasoir et les apex examinés à la loupe binoculaire, suivant la technique classique. Toutes les longueurs de tiges sont mesurées du plateau de tallage à la base de l'apex et exprimées en millimètre. Les talles étaient, soit prélevées individuellement (Féoles, Fétuques des prés, Ray-Grass II), soit extraites de plantes fragmentées en leurs éléments (Dactyle, Fétuques des prés, Ray-Grass).

Par suite d'absence d'homogénéité des travaux, nous avons présenté les résultats par espèce. Au sein de chacune d'elles, les comparaisons ne sont effectuées bien sûr qu'à état comparable.

RÉSULTATS

I. — *Analyse de la variation*

Dactyles.

a) *Variation de la longueur moyenne des tiges à la médiane du passage au stade B* (50 *p.* 100 *des plantes à ce stade*) *en fonction de l'année et des variétés.*

Les semis ont eu lieu à la même époque.

	Germinal	Floréal	Prairial
1957 (27-8)	3,7	8,4	34,1
1958 (28-8)	8,2	5,2	124,6
1959 (20-8)	31,1	10,3	9,0

b) *Variation de la longueur moyenne des talles principales au cours d'une même campagne, pour la même variété en fonction des dates de semis.*

	Germinal			Floréal			Prairial		
	1er semis 1-8-58	2e S 20-8-58	3e S 2-9-58	1er S 1-8-58	2e S 20-8-58	3e S 2-9-58	1er S 1-8-58	2e S 20-8-58	3e S 2-9-58
Début B	6,4	2,5	2,4	4,3	2,1	7,3	0,7	4,6	3,0
50 % B	6,4	31,1	2,4	30,6	10,3	19,2	4,25	9,0	33,0
100 % B	147,5	208,8	135,1	164,8	137,5	80,5	72,7	153,0	27,8

Ray-Grass.

Les chiffres cités correspondent aux longueurs moyennes des tiges des talles principales ayant toutes atteintes le stade B.

a) *Variation en fonction de l'année.*

	25-3-57	26-3-58	
Primevère (Ray-Grass anglais)	90	23	Significatif
	9-4-62	12-4-63	
Tiara (Ray-Grass d'Italie).	82	44	Significatif

b) *Variation selon la date de semis.*

	1er Semis 13-8-57	2e Semis 27-8-57	3e Semis 10-9-57	
Primevère	90	77		NS
Rita (Ray-Grass d'Italie)	156	99	152	NS
Rina (Ray-Grass d'Italie)	109	77	68	S entre 1e et 3e

c) *Variation suivant le niveau de nutrition.*

Aux espacements différents ont correspondu des densités de talles, c'est-à-dire des volumes nutritionels par talle non égaux : 3 468 talles/m² pour la condition d'installation simulant une prairie et 1 692 talles/m² quant à 10 cm × 60 cm.

	2 cm × 20 cm	10 cm × 60 cm	
Tiara	44	77	NS

d) *Variation suivant la précocité des génotypes au sein d'un même cultivar.*

Primevère	Plantes à B le 25-3-57 : 20 Plantes à B le 10-4-57 : 31	Significatif
Rina	Plantes à B le 18-3-57 : 68 Plantes à B le 8-4-57 : 100	Significatif

Fétuques des prés.

Les chiffres présentés sont obtenus dans des conditions analogues à celles des Ray-Grass.

a) *Variation suivant l'année.*

	1960	1962	
S 53	7	12	Différence significative

b) *Variation suivant la date de semis.*

	1er Semis	2e Semis	3e Semis	
	12-8-59	24-8-59		
Naïade	11,2	6		Significatif
	31-8-61	21-9-61	5-10-61	
X	14,5	7,5	22	S entre tous

c) *Variation suivant la nutrition* (*densité de semis*).

	1,5 cm × 70 cm	7,5 cm × 70 cm	
X	14,5	10	Significatif

d) *Variation suivant la précocité des génotypes d'une même variété.*

	Plantes à B le 30-4-61	Plantes à B le 14-5-61	
X	22,1	59,8	Significatif

Fétuques élevées.

Hauteur à laquelle s'est effectuée la médiane de passage à B pour différentes variétés et années :

	Manade	*S 170*	*Kentuky 31*
1962	22	15	10
1963	24	25	18

Fléoles.

Cette espèce est dans l'ensemble tardive, les apex se situent sur des tiges assez longues, même pour des stades peu avancés.

Maintenon, le 26-5-60	$\bar{x}$ = 273	10 plantes au stade C de 130 à 382
S. 51 le 26-5-60	$\bar{x}$ = 265	1 < DR (148) — 4 B (227 à 330) — 5 C (204 à 429)
S. 48 le 26-5-60	$\bar{x}$ = 230	6 < DR (105 à 367) — 2 B (138 à 325) — 2 C (229 à 339)

II. — *Détermination d'une technique d'échantillonnage sur plantes en pépinière*

Par suite de la variabilité mise en évidence, il peut exister une hétérogénéité *de hauteur de tiges au sein d'une plante et entre plantes d'une même variété*, rendant délicate l'appréciation du « point 10 cm » de la variété. Nous avons comparé l'efficacité de 4 techniques d'échantillonnage.

8 talles par plante sur 10 plantes,
4 talles par plante sur 20 plantes,
2 talles par plante sur 40 plantes,
1 talle par plante sur 80 plantes.

Ceci a été réalisé avec 2 variétés de Ray-Grass anglais *Primevère* et *Hora* (*Hooitype C. B*) le 19 avril 1963 sur la première, le 10 mai sur la seconde.

a) *Chiffres moyens obtenus suivant les systèmes.*

	Primevère	*Hora*
8 × 10	54	86
4 × 20	48	111
2 × 40	45	109
1 × 80	45	112

Ces différences peuvent être stigmatisées de la manière suivante :

	Primevère			*Hora*		
	4 × 20	2 × 40	1 × 80	4 × 20	2 × 40	1 × 80
8 × 10	1 567	2,44*	2,40*	3,47**	3,45**	3,84**
4 × 20		0,90	0,86		0,17	0,15
2 × 40			0,08			0,33

Seuil de signification de t pour P = 0,05 1.99 *
pour P = 0,001 2.64 **

Le prélèvement 8 × 10 introduit donc un biais important.

b) *Contribution respective des variances intra et inter-plantes.*

Elle a été estimée pour la technique « 8 × 10 » dans le cas de la variété *Primevère.*

Origine de la variation	F calculé	P : 0,05
Inter-Plantes	20,90	2,02 S
Inter-Talles (*intra* plante)	1,03	2,18

La variation intra-plante est faible dans ces conditions de pépinières car il existe un grand nombre de talles d'âges peu différents.

c) *Précision de ce type de mesures : coefficients de variation.*

	Primevère	*Hora*
8 × 10	48,89	43,28
4 × 20	50,41	45,11
2 × 40	50,78	39,34
1 × 80	53,00	40,55

DISCUSSION

L'examen des chiffres du premier ensemble de résultats permet de tirer quelques conclusions.

La longueur de tige atteinte lors de la réalisation d'un même stade varie en fonction de l'année, des dates de semis, de la nutrition, de l'époque où se réalise ce stade (précocité des génotypes), c'est-à-dire des conditions climatiques qu'a subies le végétal. Cette élongation a été rapportée à la somme des températures reçues par divers auteurs (REBISCHUNG).

Corrélativement ceci signifie que lors d'une coupe au « point 10 cm », les stades des apex seront fort variables. Ainsi par exemple sur les Dactyles, il a été noté les stades, observable sur une tige de hauteur moyenne égale à 10 cm.

Germinal	*Floréal*	*Prairial*
17-4-59 : 1E, 8C, 1 < DR	17-4-59 : 1E, 8C, 1B	1-5-59 : 10C

Il en est de même pour le Ray-Grass d'Italie *Tiara* dont les tiges individuelles de 10 cm portent des apex dont les stades s'échelonnent de DR à C, le Ray-Grass anglais *Primevère* de C à Épiaison. Les chiffres cités précédemment pour la Fléole font aussi ressortir une telle variation.

La dernière série de données montre que la mesure du point 10 cm est peu précise, qu'il convient d'éliminer la variation *intra* plante pour rendre compte au mieux de la hauteur moyenne de tige du cultivar. Le système 1 talle par plante sur 80 plantes, donne des chiffres non différents de ceux fournis par 4 × 20 et 2 × 40. Il est cependant préférable de l'utiliser : il pourra caractériser au mieux la variation inter-plante et le choix d'une talle parmi l'ensemble des principales d'un individu a peu d'importance.

L'élongation possible de la tige sans modification de l'apex a été signalée ou observée sur blé et sur graminées fourragères (BLONDON). Inversement l'évolution de l'épi sur des tiges très courtes, mais existantes, a aussi été remarquée par tous ceux qui travaillent avec des graminées. La divergence possible entre ces deux phénomènes est parfaitement plausible, compte tenu des connaissances que nous avons des lois physiologiques qui les gouvernent. Cependant les observations ici présentées en apportent confirmation au niveau du champ, de manière chiffrée.

Au point de vue agronomique, rappelons qu'au cours du premier cycle s'observe un arrêt du tallage ou même une régression des talles existantes. Ce fait dépend de mécanismes encore mal élucidés, tels que inhibition de type hormonal ou concurrence nutritionnelle lors de l'élongation, les deux pouvant agir conjointement ou successivement. La méthode d'exploitation au « point 10 cm » a pour but de supprimer les talles en montaison, cause de ces perturbations. La hauteur a été choisie en fonction des possibilités de coupe des engins mécanisés et des animaux.

Compte tenu des variations mises en lumière, une telle exploitation interviendra à un stade d'évolution des apex plus ou moins avancé. Si, par action hormonale, l'apex est responsable de l'arrêt du tallage, la coupe au point 10 cm l'éliminera plus ou moins tôt après son début de fonctionnement. Par contre, si les talles sont

soumises à une concurrence nutritionnelle ou une inhibition directement liée à l'élongation, l'efficacité de la méthode sera régulière puisque cette élongation sert de critère du moment d'intervention. Une étude de ces mécanismes doit être entreprise. Quoi qu'il en soit, ce principe d'exploitation permet de conserver les possibilités de tallage.

En toute hypothèse, le point 10 cm avec sa « fourchette » d'utilisation, a toute sa valeur en tant que critère agronomique. Il doit être considéré uniquement comme tel.

Reçu pour publication en août 1964.

SUMMARY

VARIATIONS IN STEM LENGTH AND THE REACHING OF A CERTAIN STAGE OF DEVELOPMENT IN HERBAGE GRASSES

On the basis of investigations conducted by members of a study group, the author studied the influences on the variation in length of the stem when the apex was at stage B. The results were obtained from cocksfoot, tall fescue, meadow fescue, timothy, and ryegrass. The year, the date of sowing, the density of planting, the variation of earliness in the variety, and the variety itself were causes of important variations.

Different stages were observed in the apices for the same length of stem. In the midst of a cultivar in nursery conditions, the variation between plants was less than that within plants. To determine the 10 cm point of a cultivar, it is preferable to sample one tiller per plant from numerous individuals rather than the reverse. The 10 cm point cannot be a physiological indicator, but it is an attractive agronomic criterion.

ZUSAMMENFASSUNG

VARIATION DER STENGELLANGE UND VERWIRKLICHUNG EINER ENTWICKLUNGSSTUFE BEI DEN FUTTERGRÄSERN

In dem es sich auf die Forschungen einer Arbeitsfütztgruppe, untersucht der Verfasser die Variationsbedingungen der Stengellänge für die an der B - Stufe liegende Halmpsitzen. Die Ergebnisse werden für Knäuelgras, Rohrschwingel, Wiesenschwingel, Lieschgras und Raygras erhalten. Der Jahrgang, das Aussaatdatum, die Saatdichte, die Frühreife der Pflanzen ineshalb der Sorte, die Sorte selbst verursachen wichtige Variationen.

Für dieselbe Stengellänge können verschiedene Spitzenstufen beobachtet werden. Inmitten eines Kultivars, in zucht ungsgasten in Bedingungen, ist die Intra-Pflanzen-Variation schwächer als die Inter-Pflanzen. Um den Punkt 10 cm. eines Kultivars zu vestimmen ist es vorteilhafter einen Wurzelschössling je Pflanze aus zahlreichen einzelnen Individuum zu entnehmen als umgekehrt zu verfahren.

Der « Punkt 10 cm » darf nicht als ein physiologisches Merkzeichen aufgefasst werden, trotzdem ist er ein wichtiges agronomisches Kritetium.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Les données ici présentées sont extraites des travaux de MM. M. GILLET, P. JACQUARD, M. LENOBLE, P. MANSAT, M. NIQUEUX, J. REBISCHUNG et leurs collaborateurs techniques.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 61-78.

EFFETS PHYSIOLOGIQUES DE L'ACIDE GIBBÉRELLIQUE SUR QUELQUES VARIÉTÉS DE VIGNE (*VITIS VINIFERA* L.)

B. JULLIARD et J. BALTHAZARD

Station de Recherches viticoles et œnologiques, Centre de Recherches agronomiques d'Alsace Colmar (Haut-Rhin)

SOMMAIRE

Les réactions à l'acide gibbérellique de quelques variétés fertiles de *V. vinifera* L. ont été précisées. Elles ont beaucoup varié en intensité d'un cépage à l'autre. Ce sont l'*Auxerrois* et les *Pinots* qui ont présenté les réactions les plus discrètes. En janvier, la dormance du *Sylvaner* traité était plus profonde que celle du témoin correspondant, mais en avril cet effet induit avait disparu. L'initiation florale a été très perturbée sur *Riesling*, *Chasselas*, *Sylvaner* et *Gewurztraminer*.

Une application pré-florale d'acide gibbérellique provoque une coulure intense en réduisant la fécondation. Mais un traitement post-floral provoque le grossissement des baies apyrènes et supplée donc au stimulus dû aux pépins.

A. — INTRODUCTION

L'acide gibbérellique a suscité un grand nombre de travaux sur de nombreuses espèces annuelles et pérennes, néanmoins nos connaissances de l'action de cette substance sur la physiologie des plantes présentent encore de nombreuses lacunes. La mise au point de LABORIE (1963) a fait état d'assez importantes divergences de résultats.

L'hypothèse selon laquelle les gibbérellines n'interviendraient qu'indirectement par une action sur l'auxine, se heurte à des difficultés. En effet, bien que fréquemment un traitement par l'acide gibbérellique provoque une augmentation de la teneur en auxine, il est des phénomènes où leur action est différente, voire opposée. Alors que l'acide β indolylacétique a une action puissante sur les mitoses des cultures de tissus et la prolifération des assises génératrices, les gibbérellines n'ont pas d'action semblable. D'autre part, l'acide gibbérellique à des concentrations inférieures à 10^{-7}, stimule la rhizogenèse mais l'inhibe dès que les concentrations s'élèvent. Cette inhibition est en partie levée par l'auxine, SPANGERSBERG et GAUTHERET, (1964) ; JULLIARD, (1964).

L'action de l'acide gibbérellique sur les échanges de la plante avec le milieu semble varier avec le matériel végétal, et peut-être, le stade végétatif. En effet, les conclusions sont très diverses d'un auteur à l'autre. C'est ainsi que pour une même plante, le Blé, BOLLI (1959) constate un ralentissement de la photosynthèse alors que HABERT et TOLBERT (1957) ne notent pas de modification de la fixation de $^{14}CO_2$ après traitement. Par contre, la respiration est très généralement stimulée.

Un autre aspect de l'influence des gibbérellines est l'action sur les pigments chlorophylliens. Quelques auteurs y voient le reflet d'une carence nutritionnelle. Cette opinion paraît excessive, car il est peu probable que tous ceux qui signalent une chlorose, et ils sont la grande majorité, se soient trouvés dans des conditions d'alimentation défectueuse. LABORIE (1963 *b*) constate une diminution de la quantité de chlorophylle rapportée à la surface mais non au poids de limbe frais du blé et de la tomate.

WOLF et HABERT (1960) émettent l'hypothèse « d'une impossibilité » pour la synthèse de la chlorophylle de marcher de pair avec l'expansion accrue des cellules.

Les publications concernant la vigne sont nombreuses. STEWART (1958), WEAVER (1958) notent une amélioration de la nouaison et un accroissement de la taille des baies chez deux cépages apyrènes : *Corinthe noir* et *Thompson seedless*. SHAULIS (1959) constate également un accroissement de la taille des baies apyrènes de *V. labrusca* L., cépages ayant normalement des pépins.

La coulure se manifeste sur les cépages à graines traités à un stade pré-floral WEAVER, (1958) ; RIVES et POUGET, (1959) ; WILHELM, (1959) ; BRANAS et VERGNES, (1960) ; ALLEWELDT, (1960). Ces mêmes auteurs ont cherché à mettre à profit l'action sur l'élongation des organes en croissance. En effet la compacité des grappes est un facteur de dépréciation commerciale des raisins de table et favorise l'évolution du Botrytis. L'élongation de la rafle est obtenue très facilement, mais elle est toujours liée à la coulure de sorte qu'il était prématuré d'envisager une utilisation en grande culture.

RIVES et POUGET (1959) signalent un retard au débourrement de l'ordre de quinze à vingt jours, une diminution du nombre de bourgeons débourrés et une forte diminution de la fertilité chez un *V. vinifera L.* le *Chasselas* mais n'ont pas chiffré ces observations. Pour WEAVER et Mc CUNE (1961), en Californie, l'intensité de l'inhibition de l'initiation florale a varié considérablement d'une variété à l'autre. Cette inhibition n'est pas qu'une conséquence indirecte résultant de la stimulation de l'élongation puisque ALLEWELDT (1961) constate l'absence d'inflorescence chez *V. rupestris* SCH. après traitement à des doses qui n'ont pas provoqué d'élongation. On retrouve d'ailleurs cette inhibition chez un grand nombre d'espèces ligneuses GUTTRIDGE, (1962). Avant d'envisager des applications pratiques éventuelles il convenait de reprendre des essais dans notre milieu et avec le matériel végétal cultivé en Alsace.

B. — MATÉRIEL ET MÉTHODES

Un seul traitement a été appliqué le 5 mai 1961 sur 21 souches adultes, dans le vignoble sur les variétés de *V. vinifera* L. suivantes : *Auxerrois, Chasselas, Pinot blanc, Pinot gris, Gewurztraminer, Riesling* et *Sylvaner*. La pulvérisation foliaire a mis en œuvre des solutions à 10, 20 et 50 parties par million d'acide gibbérellique (formulation Rhône-Poulenc) rendues mouillantes par du « Triton

B ». Un volume de 100 cc de solution a été appliqué par souche. Elles se trouvaient au stade 7 à 8 feuilles étalées. A ce stade les inflorescences sont dégagées et peuvent être atteintes directement par le jet. La chlorophylle a été dosée selon la méthode de Mc KINNEY (1961).

Les mesures de longueur ont été effectuées sur 180 sarments et 200 rafles prises au hasard, le poids des bois de taille sur 21 souches et le poids des grappes sur 200 exemplaires pris au hasard.

La fertilité a été appréciée selon deux méthodes :

La première, traditionnelle, consiste à compter les inflorescences en mai-juin, sur les sarments laissés à la taille. On tient compte du rang d'insertion des bourgeons sur les sarments puisqu'il existe un gradient de fertilité.

Une seconde méthode a été mise au point. Elle consiste à prélever des lots de boutures à un bourgeon de rangs déterminés, à lever la dormance à l'époque de son choix avec la monochlorhydrine du glycol et à mettre en serre ou en étuve à 25°C pendant un mois. Cette méthode donne des résultats plus rapides que l'observation au vignoble puisqu'elle permet d'opérer avant la levée naturelle de la dormance. La précision est supérieure à celle de la première méthode puisque l'échantillonnage n'est plus tributaire des seuls bois laissés à la taille. D'autre part, elle est beaucoup plus rapide et moins astreignante que la dissection et l'observation microscopique.

En 1962, pour préciser l'influence de la gibbérelline sur la coulure et le grossissement des baies, les traitements suivants ont été appliqués sur le *Gewurztraminer :*

Traitement 1 : application pré-florale au stade 6 feuilles le 16-5-62.
Traitement 2 : application le 16-5 et le 11-7-62.
Traitement 3 : application post-florale le 11-7-62.

Chaque traitement a été appliqué aux doses de 10, 25 et 50 p.p.m.

Le poids moyen d'une grappe a été obtenu par la pesée de la vendange totale. Un échantillon de 100 grappes a été prélevé au hasard. Les baies de ces grappes ont été distribuées en 5 classes, par passage à travers des passoires normalisées (norme NF × 11 — 501) qui sont telles que le volume théorique double d'une classe à l'autre. Le nombre de pépins a été compté pour chaque classe ainsi que le nombre et le poids des baies.

Les mêmes traitements ont été appliqués au *Pinot blanc* en vue d'un contrôle de l'initiation florale.

C. RÉSULTATS

1. — *Réactions de l'appareil végétatif*

a) *Teneur en chlorophylle.*

Avant d'entreprendre des dosages de chlorophylle chez la vigne, nous avons réalisé un essai sur plantules de blé. Les plantules ont été cultivées sur sable arrosé copieusement en subirrigation avec une solution nutritive. Nous avons relevé une diminution significative de la quantité de chlorophylle $a + b$ rapportée à la surface et au poids des limbes. Par ailleurs, le poids des racines tombe au quart de celui des témoins, de sorte que s'il y a malnutrition elle pourrait provenir, non du milieu mais de l'inhibition que la gibbérelline exerce sur le développement des racines.

La vigne réagit également par une chlorose. Dix jours après la pulvérisation, cet effet était net, en particulier sur les rangs de *Sylvaner* traités à forte dose. Le dosage de la chlorophylle $a + b$, effectué un mois après le traitement, a montré que le témoin contenait 1,35 g de chlorophylle $a + b$ pour 100 g de limbe frais alors qu'à la suite du traitement la teneur est tombée à 1,07 g pour 100. Ces différences sont significatives. Au bout de deux mois, elles se sont estompées.

b) *Élongation des tiges.*

Traités à un stade végétatif identique, les différents cépages ont extériorisé des réactions très graduées qui ont été visibles rapidement. Toutefois les mesures n'ont été effectuées qu'après l'arrêt de la végétation.

Chez les *Pinot blanc*, *Pinot gris*, *Auxerrois* et *Riesling* les différences sont restées faibles et masquées par la fluctuation des résultats (tabl. 1). Les longueurs des sarments chez le *Gewurztraminer* traité ont été significativement supérieures au témoin au seuil P = 0,05, pour les trois doses expérimentées. Le *Sylvaner* est un cépage particulièrement faible qui a réagi d'une manière spectaculaire. Le tableau 1 ne

TABLEAU 1

Influence de l'acide gibbérellique sur l'élongation des tiges

Cépages	Longueur des sarments en centimètres et longueur relative par rapport au témoin							
	Témoin		Gibbérelline 10 p.p.m.		Gibbérelline 20 p.p.m.		Gibbérelline 50 p.p.m.	
	cm	%	cm	%	cm	%	cm	%
Pinot blanc (10 entre-nœuds)	70,43	100	71,44	101	72,97	103	70,87	101
Pinot gris (15 entre-nœuds)	106,68	100	101,38	95	106,85	100	112,30	105
Riesling (12 entre-nœuds)	82,66	100	96,31	116	99,30	120	85,50	103
Gewurztraminer (10 entre-nœuds)	53,44	100	60,70	113	63,04	118	63,18	118
Sylvaner (10 entre-nœuds)	42,31	100	47,69	113	49,64	117	55,24	130

TABLEAU 2

Influence de l'acide gibbérellique sur les poids des bois de taille en grammes par souche

(Hiver 1961-1962)

Cépages	Témoin g	Gibbérelline 10 p. p. m. g	Gibbérelline 20 p. p. m. g	Gibbérelline 50 p. p. m. g
Auxerrois	518,8	600,5	570,0	539,0
Chasselas	424,3	364,0	500,2	444,3
Gewurztraminer	371,2	478,6	482,8	469,8
Pinot gris	383,8	441,5	441,2	460,0
Riesling	431,4	470,7	438,6	363,6
Sylvaner	143,2	197,0	224,5	270,3

concerne que les 10 premiers entre-nœuds parce que le témoin ne s'est pas développé au-delà. Mais les souches traitées à 50 p.p.m. ont développé plus de 15 entre-nœuds. On le constate aisément sur la figure 1.

Les longueurs individuelles de chaque entre-nœud ont été mesurées sur 180 sarments de plusieurs variétés afin de dresser les courbes de croissance en fonction

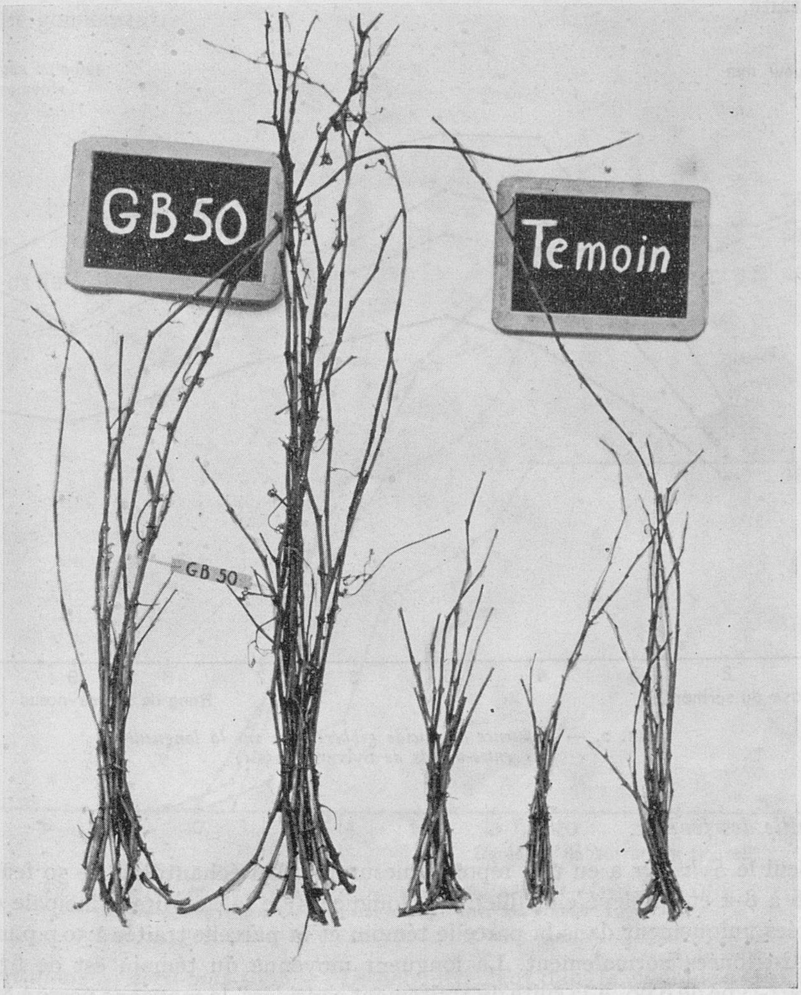


FIG. 1. — *Influence d'un seul traitement préfloral d'acide gibbérellique sur l'élongation des tiges de* Sylvaner (1961)

du rang de l'œil compté à partir de la base. Le pourcentage d'élongation dû au traitement a été sensiblement stable du 3^e^ au 10^e^ œil comme on peut s'en rendre compte sur le graphique de la figure 2 qui intéresse le *Sylvaner*. Ce résultat est assez surprenant si l'on songe qu'au moment du traitement, les entre-nœuds de la base avaient atteint près de 50 p. 100 de leur taille définitive alors que ceux de rangs plus élevés n'existaient qu'à l'état d'ébauche dans l'apex.

c) *Poids des bois de taille.*

Le résultat des pesées des bois de taille est donné au tableau 2. Précisons qu'il s'agit du poids des sarments de l'année à l'exclusion des parties plus âgées. La fluctuation des données individuelles est très forte, de sorte qu'il n'y a aucune différence significative sauf chez le *Sylvaner* où le traitement à 50 p.p.m. est supérieur au témoin non traité.

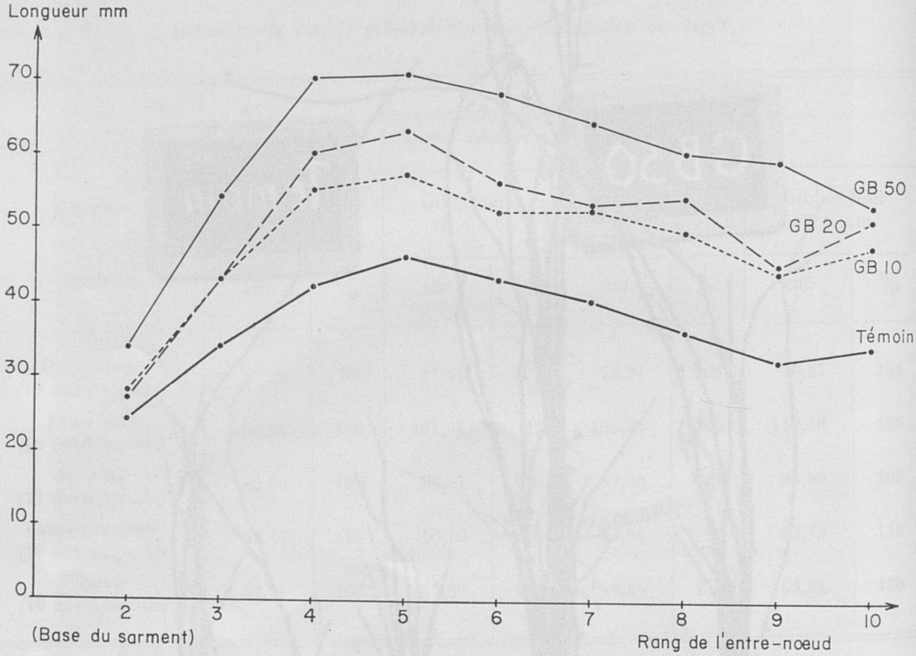


FIG. 2. — *Influence de l'acide gibbérellique sur la longueur des entre-nœuds de* Sylvaner (1961)

d) *Taille des feuilles.*

Seul le *Sylvaner* a eu une réponse mesurable. Un échantillon de 50 feuilles de rang 6 à 8 a été prélevé en juillet. Les longueurs de la nervure principale ont été mesurées uniquement dans la parcelle témoin et la parcelle traitée à 50 p.p.m. Elles sont distribuées normalement. La longueur moyenne du témoin est de 67,2 mm et l'écart-type de 6,90. A la suite du traitement considéré, la moyenne passe à 83,6 mm l'écart-type reste à 6,95. Le traitement pré-floral à 50p.p.m. a donc accru l'expansion des feuilles de *Sylvaner*.

e) *Débourrement.*

Pour le *Sylvaner* le débourrement a été suivi sur un échantillon de 50 boutures de rang 4, mis en étuve à 30°, le 16 janvier 1962. De plus, pour l'ensemble des variétés une notation a été faite au moment du débourrement naturel en avril 1962.

Observations de janvier 1962. — Tous les bourgeons ayant atteint le stade C de

Baggiolini (1952) ont été considérés comme débourrés. A partir des observations journalières le graphique de la figure 3 a été construit. Deux constatations s'imposent : la dormance du témoin n'est pas entièrement levée puisqu'au bout de 40 jours 80 p. 100 seulement des bourgeons ont débourré. La dormance du *Sylvaner* traité à 50 p.p.m. est beaucoup plus marquée que celle du témoin puisqu'au bout du même laps de temps 53 p. 100 des bourgeons n'ont toujours pas débourré, ni manifesté le moindre gonflement.

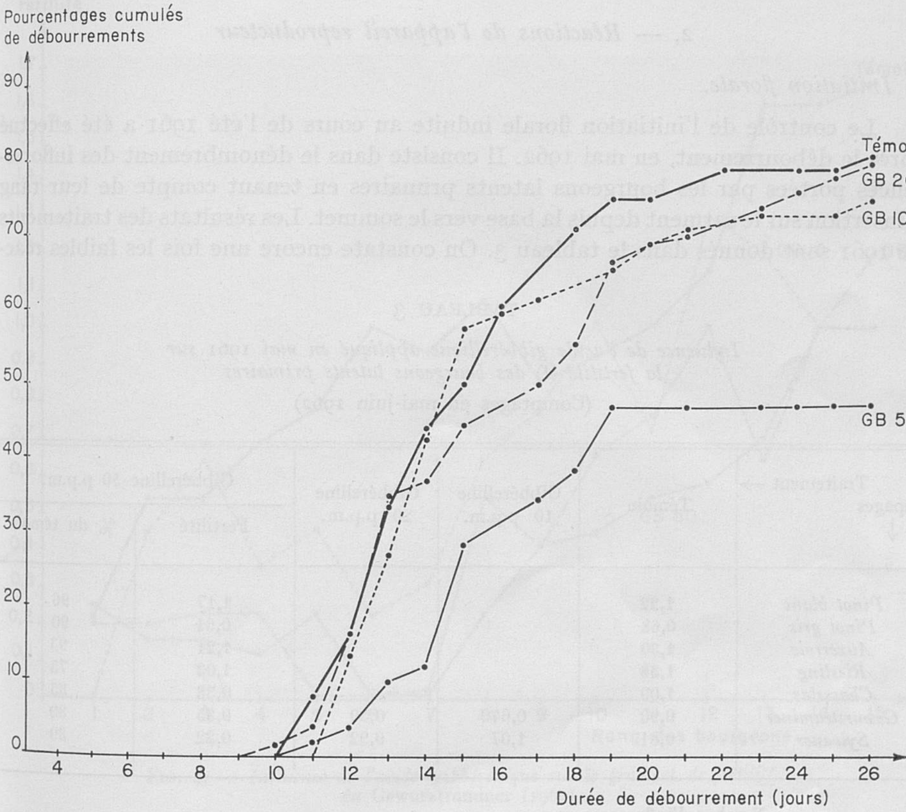


Fig. 3. — *Influence de l'acide gibbérellique en traitement préfloral* (5-5-61) *sur le débourrement de boutures de* Sylvaner *en janvier* 1962

Observations en avril-mai 1962. — Le débourrement dans le vignoble a été tardif et surtout très brutal. Du 25 au 28 avril tous les cépages et tous les traitements ont débourré simultanément à Ribeauvillé. Aucune perturbation de croissance n'a été constatée : au contraire, le *Sylvaner* traité a montré une vigueur accrue. On en conclura que l'acide gibbérellique « renforce » la dormance naturelle de la vigne mais que dans nos conditions entre janvier et avril, cet effet induit a disparu. Il est intéressant de rapprocher ce fait des observations effectuées en Californie et dans le Bordelais où le retard au débourrement s'observe dans le vignoble et on peut être tenté d'imputer la différence à la rigueur toute continentale de l'hiver en Alsace.

Dans le Bordelais, Pouget (1963) a réalisé une étude très complète du repos

physiologique de la vigne. Il a montré que l'acide gibbérellique, appliqué par trempage de bouture à un œil, pendant la dormance, en accentue l'intensité. Mais il n'a pas étudié la levée de la dormance induite par un traitement foliaire précoce d'acide gibbérellique. Une autre observation renforce l'hypothèse que le froid intervient dans la levée de dormance induite par l'acide gibbérellique : à la suite d'un hiver très clément les *Sylvaner,* qui ont reçu une application préflorale d'acide gibbérellique en 1963, ont montré un retard important au débourrement en avril 1964.

2. — *Réactions de l'appareil reproducteur*

a) *Initiation florale.*

Le contrôle de l'initiation florale induite au cours de l'été 1961 a été effectué après le débourrement, en mai 1962. Il consiste dans le dénombrement des inflorescences portées par les bourgeons latents primaires en tenant compte de leur rang d'insertion sur le sarment depuis la base vers le sommet. Les résultats des traitements de 1961 sont donnés dans le tableau 3. On constate encore une fois les faibles réactions des *Pinot blanc, Pinot gris* et *Auxerrois*. Le *Riesling* traité à 50 p.p.m. accuse une réduction du nombre d'inflorescences de l'ordre de 25 p. 100. Chez le *Gewurztraminer* et le *Sylvaner* la fertilité n'atteint que 39 p. 100 des témoins et chez le *Chasselas* 35 p.100. Si l'on considère la relation entre la fertilité et le rang du bourgeon sur le sarment qui l'a porté, on constate, dans les conditions naturelles, l'existence d'un gradient. Par exemple, chez le *Gewurztraminer* témoin non traité de la figure 4, le rang 1 a une fertilité moyenne de 0,2 inflorescence par bourgeon, le rang 6 une fertilité de 1,0 et le rang 15 une fertilité de 1,66. Les résultats des traitements seront discutés plus loin.

TABLEAU 3

Influence de l'acide gibbérellique appliqué en mai 1961 sur la fertilité [1] *des bourgeons latents primaires*

(Comptages en mai-juin 1962)

Traitement → / Cépages ↓	Témoin	Gibbérelline 10 p.p.m.	Gibbérelline 20 p.p.m.	Gibbérelline 50 p.p.m.	
				Fertilité	% du témoin
Pinot blanc	1,22			1,17	96
Pinot gris	0,68			0,61	90
Auxerrois	1,30			1,21	93
Riesling	1,38			1,03	75
Chasselas	1,09			0,38	35
Gewurztraminer	0,90	0,64	0,50	0,35	39
Sylvaner	0,81	1,07	0,92	0,32	39

[1] Fertilité : $\frac{\text{Nombre d'inflorescences}}{\text{Nombre de bourgeons}}$

Chez le *Sylvaner* traité la fertilité est à peu près nulle pour tous les bourgeons de rang inférieur à 8 puis elle croît très rapidement pour se rapprocher des témoins. Sur la figure 5 on remarque l'absence de grappes sur les yeux de la base du sarment.

A la suite des traitements entrepris en 1962 la fertilité a été analysée sur le *Pinot blanc* qui avait peu réagi dans les essais précédents. La dose de 50 p.p.m. d'acide gibbérellique a, cette fois, conduit à une réduction du nombre d'inflorescences et du poids moyen d'inflorescences par bourgeon (fig. 6). Il faut cependant ajouter que

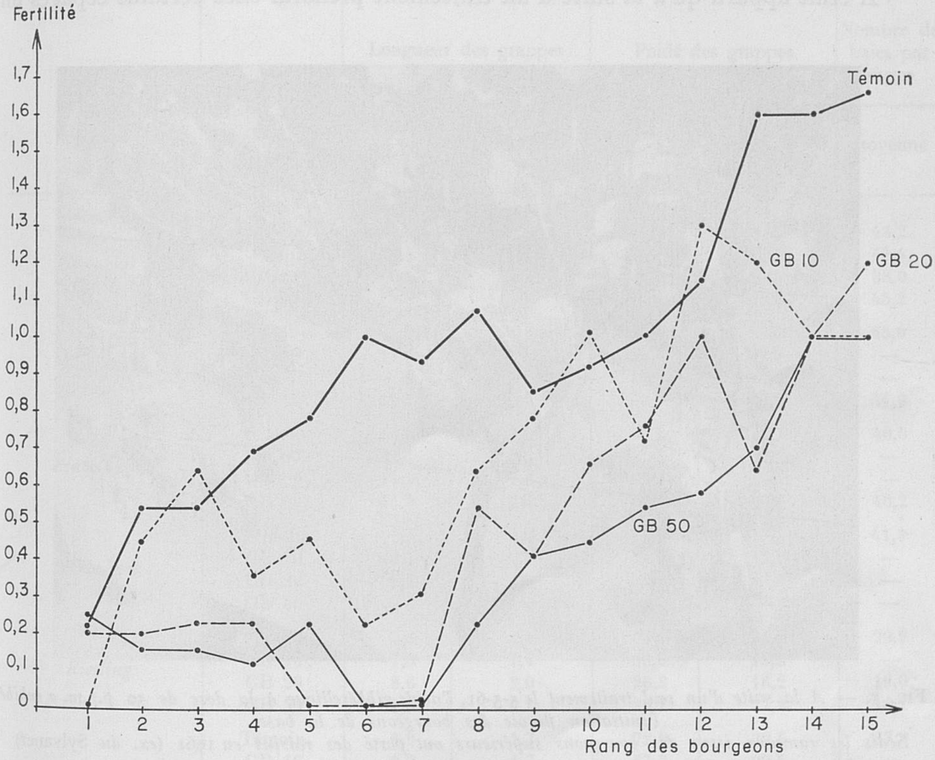


FIG. 4. — *Influence de l'acide gibbérellique sur le gradient de fertilité du* Gewurztraminer (1961).

par suite des compensations intervenues lors de la fécondation et du grossissement des baies, aucune différence de récolte ne subsistait à la vendange 1963.

b) *Élongation des rafles.*

L'élongation de la charpente de la grappe a été l'effet recherché par la majorité des expérimentateurs. L'*Auxerrois* n'a pas réagi (tabl. 4). Chez les autres cépages, *Chasselas, Pinot, Riesling*, on obtient une réponse positive qui devient très importante pour le *Sylvaner* et le *Gewurztraminer*.

c) *Poids des grappes.*

Il se décompose en poids de la rafle et poids des baies. Le poids de la rafle ne représente pas plus de 5 à 7 p. 100 du poids total de la grappe. Le poids des baies est le produit du nombre de baies par le poids moyen d'une baie. Or, celui-ci est essen-

tiellement fonction du nombre de pépins par baie. L'acide gibbérellique, en traitement préfloral, pertube la fécondation avec, comme conséquence, la coulure, d'où un déficit du poids des grappes (tabl. 4). Mais d'autre part, cette hormone intervient dans le grossissement de baies apyrènes en remplaçant le stimulus sécrété par le pépin. Ce fait déjà signalé, a été retrouvé en 1961 chez le *Riesling* et le *Gewurztraminer*. Il n'a de loin pas compensé la perte de poids due à la coulure. Cet aspect de la question a été réanalysé en 1962.

Il était apparu qu'à la suite d'un traitement préfloral chez certains cépages un



FIG. 5. — *A la suite d'un seul traitement le 5-5-61, l'acide gibbérellique à la dose de 50 p.p.m. a inhibé l'initiation florale des bourgeons de la base.*
Seuls les rameaux issus des bourgeons supérieurs ont porté des raisins en 1961 (*ex. du* Sylvaner)

grand nombre de baies apyrènes se maintenaient sur la grappe et pouvaient acquérir un certain développement, vérer et mûrir. L'hypothèse à vérifier était qu'un traitement postfloral est capable de provoquer un grossissement appréciable et « économique » des baies apyrènes. Cet essai a été réalisé sur *Gewurztraminer*, en 1962, parce que les grappes de ce cépage avaient réagi le plus fortement antérieurement.

A la suite du traitement préfloral (n° 1) le nombre de baies par grappe a été inférieur au témoin. En effet, alors que le témoin avait en moyenne 65,3 baies par grappe, ce nombre est passé

à 59,6 dans le cas du traitement à 10 p.p.m.
à 53,5 dans le cas du traitement à 25 p.p.m.
à 58,6 dans le cas du traitement à 50 p.p.m.

Le tri à l'aide des passoires normalisées a été très utile pour distribuer les échantillons de baies de 100 grappes soit de 5 000 à 8 000 baies en 5 classes de volume. Celui-ci double d'une classe à l'autre (le volume de la classe 1 étant de 98 mm³ et

TABLEAU 4

Influence de l'acide gibbérellique sur la longueur, le poids et le nombre de baies par grappe
(Essais 1961)

Cépage	Traitement	Longueur des grappes		Poids des grappes		Nombre de baies par grappe
		moyenne (cm)	écart-type	moyenne (g)	écart-type	moyenne
Chasselas	Témoin	14,4	3,4	106,6	56,6	43,2
	GB 10	14,4	4,3	104,8	63,7	45,4
	GB 20	15,1	4,3	89,4	55,4	38,0
	GB 50	15,8	4,6	105,4	59,4	45,2
Auxerrois	Témoin	11,5	1,9	63,0	29,6	45,0
	GB 10	11,8	2,0	58,6	32,9	—
	GB 20	11,0	2,1	41,0	25,4	—
	GB 50	11,1	1,8	58,9	26,4	44,9
Pinot blanc	Témoin	10,6	2,0	57,3	23,7	40,0
	GB 10	11,1	2,4	65,7	32,7	—
	GB 20	11,6	2,2	57,7	26,5	—
	GB 50	11,9	2,4	60,7	24,7	40,2
Pinot gris	Témoin	9,3	2,0	24,8	10,7	41,3
	GB 10	9,1	1,7	24,0	12,1	—
	GB 20	9,7	1,9	24,3	13,0	—
	GB 50	—	—	—	—	—
Riesling	Témoin	7,6	2,0	36,2	21,9	29,9
	GB 10	7,3	1,4	33,6	19,2	—
	GB 20	8,6	2,0	26,3	18,2	19,0
	GB 50	8,5	2,1	26,1	27,2	16,1
Sylvaner	Témoin	8,9	1,7	72,9	32,6	37,9
	GB 10	8,9	1,7	67,3	29,5	—
	GB 20	10,6	1,7	66,8	33,0	37,2
	GB 50	10,5	1,8	69,6	32,2	34,6
Gewurztraminer	Témoin	7,9	1,6	20,0	12,6	16,7
	GB 10	8,7	1,9	17,1	9,2	—
	GB 20	9,7	1,8	17,2	9,9	10,3
	GB 50	10,8	2,1	15,1	6,8	4,2

celui de la classe 5 étant de 1584 mm³). La répartition par classe a montré le déficit des baies de petit volume dans le cas du traitement nº 1 (fig. 7). Lorsque le traitement préfloral a été suivi par une application postflorale, traitement nº 2 ; le nombre de baies à la récolte a atteint :

80,7 pour le traitement à la dose de 10 p.p.m.
80,4 pour le traitement à la dose de 25 p.p.m.
85,6 pour le traitement à la dose de 50 p.p.m.

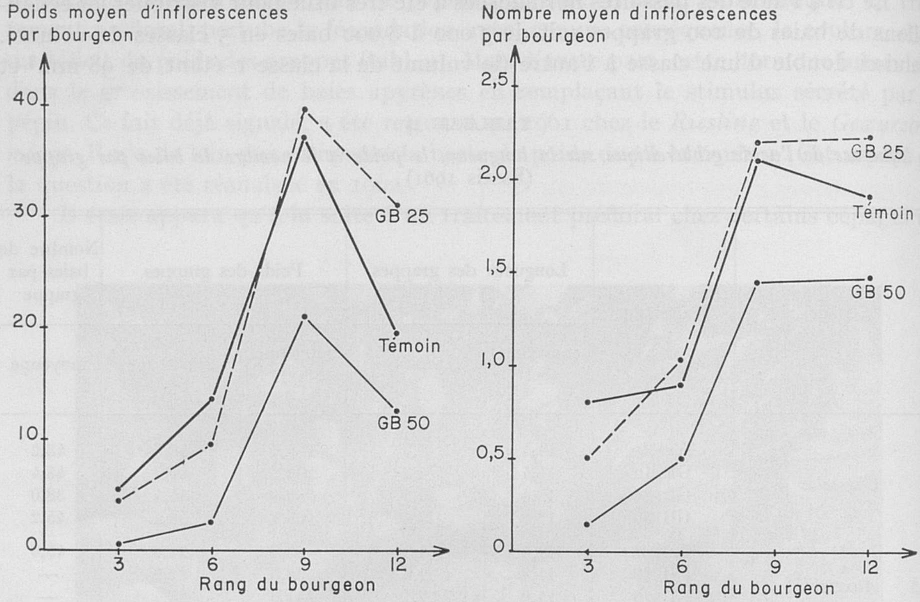


FIG. 6. — *Influence de l'acide gibbérellique sur l'initiation florale du* Pinot blanc *en* 1962

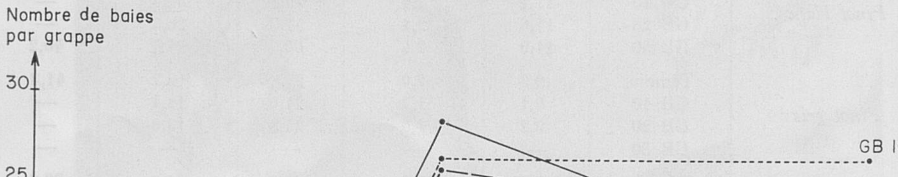


FIG. 7. — *Influence de l'acide gibbérellique en traitement préfloral sur le nombre de baies par grappe.* Gewurztraminer (1962)

La figure 8 reproduit le graphique de la distribution des baies. On remarque les différences positives très importantes pour les classes 2, 3, 4 et également la diminution du nombre de baies en classe 5 du traitement à la dose la plus élevée. Comme une application postflorale ne saurait interférer avec la fécondation il s'ensuit que l'excédent de baies observé est dû à des baies apyrènes. Et cet excédent a atteint 30 p. 100 par rapport au témoin.

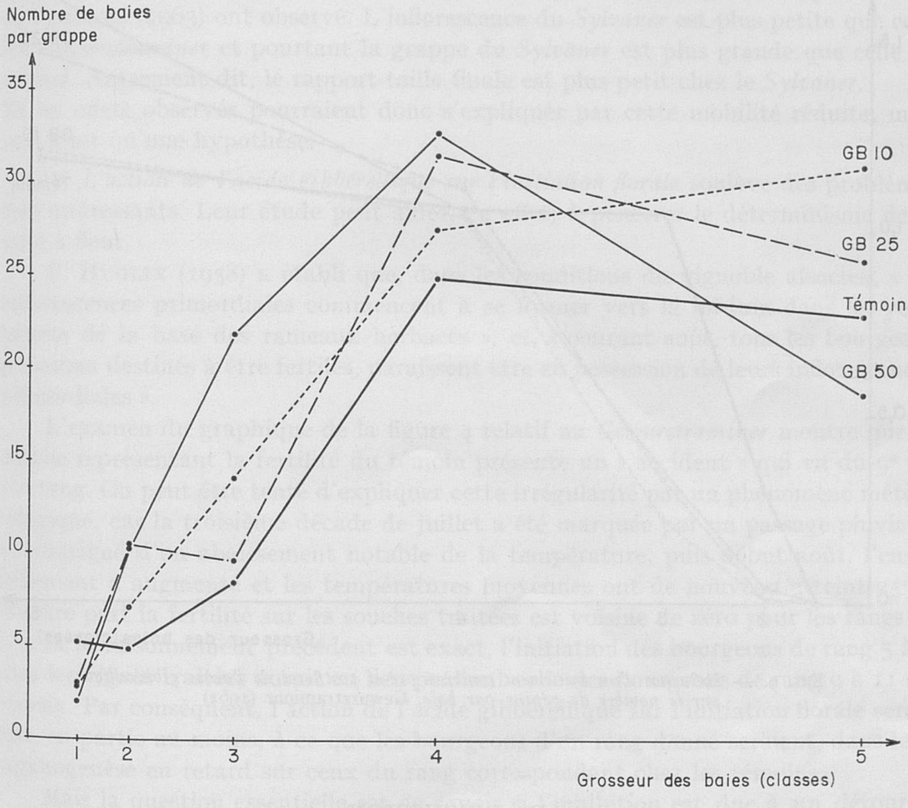


FIG. 8. — *Influence d'un traitement combiné pré-et postfloral de l'acide gibbérellique sur le nombre de baies par grappe.* Gewurztraminer (1962)

Une application postflorale sans traitement préfloral préalable, traitement n° 3, a donné les résultats suivants :

75,9 baies pour le traitement à 10 p.p.m.
77,5 baies pour le traitement à 25 p.p.m.
68,6 baies pour le traitement à 50 p.p.m.

Rappelons que le témoin avait en moyenne 65,3 baies par grappe. A nouveau cet excédent de baies ne peut être attribué qu'à des baies apyrènes.

Le contrôle du nombre de pépins à l'intérieur de chaque classe et pour chaque combinaison traitement et dose, a recoupé ces indications et les a confirmées. C'est

ainsi que pour le traitement n° 1 le nombre de pépins a été inférieur au témoin dans les classes 2 et 3, égal pour la classe 4 et supérieur pour la classe 5. Le traitement n° 2 a amplifié ces différences comme le montre le graphique de la figure 9. Sous ce rapport le traitement n° 3 ne se distingue pas grandement du traitement n° 2.

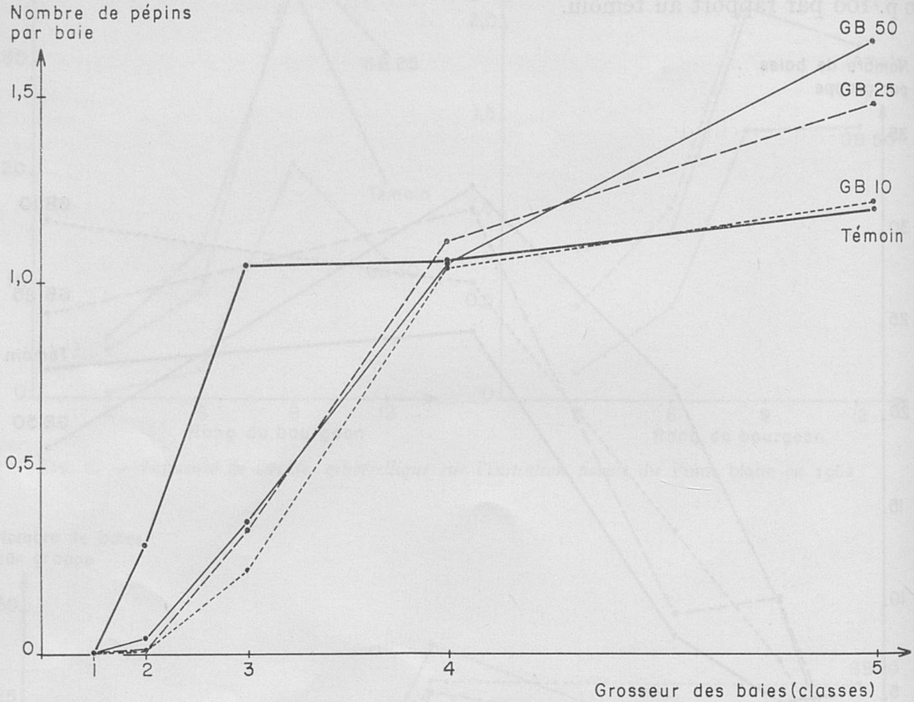


FIG. 9. — *Influence d'un traitement combiné pré-et postfloral de l'acide gibbérellique sur le nombre de pépins par baie.* Gewurztraminer (1962)

D. DISCUSSION

1° La *chlorose* observée à la suite d'une application de gibbérelline correspond à une baisse de la teneur en chlorophylle $a + b$, que cette teneur soit exprimée par unité de surface ou de poids frais. S'agit-il d'un effet primaire spécifique du traitement, d'une réduction de la synthèse des pigments chlorophylliens ou d'une conséquence indirecte : dilution des pigments dans une masse végétale accrue ? Cette question n'a pas été approfondie. La chlorose la plus intense a été décelée chez le *Sylvaner* où l'élongation fut aussi la plus importante ; mais ceci ne constitue pas une preuve suffisante. Le traitement à la gibbérelline suivi d'ablation de sévérité croissante et la mesure parallèle des élongations et des taux de chlorophylle pourrait aider à la solution de cette question.

2° *L'élongation de la charpente de la grappe* a été, chez tous les cépages, sauf le *Sylvaner*, plus importante que celle des tiges. Cela ne peut être dû à la position de

la grappe sur le sarment puisque l'élongation, par rapport au témoin de l'entre-nœud de rang 4, n'est pas supérieure à celle de l'entre-nœud de rang 10 par exemple. Le rapport entre la taille de l'inflorescence au moment du traitement et celle à maturité est plus grand que ce même rapport dans le sarment. Il pourrait s'ensuivre qu'au bout d'un certain temps la concentration relative d'acide gibbérellique soit plus élevée dans l'inflorescence que dans la tige. Nous y verrions plutôt une conséquence de la faiblesse de la mobilité de l'acide gibbérellique chez la vigne, fait que BRANAS et VERGNES (1963) ont observé. L'inflorescence du *Sylvaner* est plus petite que celle du *Gewurztraminer* et pourtant la grappe du *Sylvaner* est plus grande que celle du second. Autrement dit, le rapport taille finale est plus petit chez le *Sylvaner*.
Et les effets observés pourraient donc s'expliquer par cette mobilité réduite, mais ceci n'est qu'une hypothèse.

3° *L'action de l'acide gibbérellique sur l'initiation florale* soulève des problèmes très intéressants. Leur étude peut aider, en effet, à pénétrer le déterminisme de la mise à fleur.

P. HUGLIN (1958) a établi que, dans les conditions du vignoble alsacien, « les inflorescences primordiales commencent à se former vers la mi-juin dans les yeux latents de la base des rameaux herbacés », et, « courant août, tous les bourgeons primaires destinés à être fertiles, paraissent être en possession de leurs inflorescences primordiales ».

L'examen du graphique de la figure 4 relatif au *Gewurztraminer* montre que la courbe représentant la fertilité du témoin présente un « accident » qui va du 9e au 12e rang. On peut être tenté d'expliquer cette irrégularité par un phénomène météorologique, car la troisième décade de juillet a été marquée par un passage pluvieux accompagné d'un abaissement notable de la température, puis début août, l'ensoleillement a augmenté et les températures moyennes ont de nouveau atteint 25°C. D'autre part la fertilité sur les souches traitées est voisine de zéro pour les rangs 5, 6, 7. Si le raisonnement précédent est exact, l'initiation des bourgeons de rang 5 à 7 chez les vignes traitées aurait eu lieu pendant celle des bourgeons de rang 9 à 11 du témoin. Par conséquent, l'action de l'acide gibbérellique sur l'initiation florale serait due, en partie au moins, à ce que les bourgeons d'un rang donné seraient, dans leur organogenèse en retard sur ceux du rang correspondant chez les témoins.

Mais la question essentielle est de savoir si l'inhibition est due à un détourne ment des métabolites vers la croissance ou à la réduction de la synthèse d'une éventuelle hormone de floraison. On pourrait aussi supposer que la diminution de la fertilité est une conséquence de la baisse du taux de chlorophylle et partant de la photosynthèse. Des essais sont en cours pour préciser cet aspect. En 1962 le *Pinot blanc* n'a apparemment pas réagi à l'acide gibbérellique. En effet ni la coulure ni l'élongation n'ont été influencées par le traitement préfloral et pourtant la fertilité a été diminuée comme on peut s'en rendre compte sur le graphique de la figure 6.

4° *L'action de l'acide gibbérellique sur les grappes* a donné des résultats qu'il est intéressant de commenter.

a) Le traitement n° 1 préfloral provoque une coulure puisque le nombre de baies comptées à la récolte est inférieur au témoin et que le nombre de pépins par baie est également inférieur.

b) Le traitement n° 3 postfloral seul, augmente le nombre de baies par grappe

et l'analyse des résultats montre que cette augmentation est due uniquement à des baies apyrènes.

c) Avec la combinaison des deux pulvérisations pré - et postflorales, traitement n° 2, on observe le nombre de baies le plus élevé et de nouveau cette augmentation est due uniquement à des baies apyrènes.

La différence dans le nombre de baies entre les traitements n° 2 et n° 3 tient à l'apyrénie induite par le traitement préfloral. Alors qu'en 1961 ces baies apyrènes sont restées très nombreuses sur les grappes, en 1962, elles sont tombées lorsqu'une deuxième application de gibbérelline n'a pas été faite au stade postfloral. Cette hormone exogène supplée donc à l'absence de pépins et on peut même préciser que le volume des baies a doublé par rapport au témoin puisqu'à nombre égal de pépins, le décalage en volume est sensiblement d'une classe. Mais on constate également que lorsque le nombre moyen de pépins par baie atteint 1 le volume moyen des baies est identique chez les témoins et les traités. Lorsque ce nombre moyen de pépins par baie dépasse 1 le volume des baies traitées n'atteint pas celui du témoin. Dans ces conditions l'acide gibbérellique a un effet dépressif, peut-être par excès.

Il est surprenant de constater que l'acide gibbérellique provoque le grossissement des baies apyrènes et supplée donc à un stimulus issu du pépin chez un cépage de *Vitis vinifera* à graine alors que cette hormone ne serait naturelle que chez les cépages apyrènes.

E. — RÉSUMÉ ET CONCLUSION

En 1961, des souches adultes d'*Auxerrois*, de *Chasselas blanc*, de *Gewurztraminer*, de *Pinot blanc*, de *Pinot gris*, de *Riesling* et de *Sylvaner* ont été traitées au stade préfloral avec des solutions aqueuses d'acide gibbérellique dont la concentration variait de 0 à 50 parties par million.

La teneur en chlorophylle baisse temporairement chez le *Sylvaner* après traitement aux doses élevées.

L'élongation des tiges a été mesurée. L'accroissement atteint 118 p. 100 du témoin chez le *Gewurztraminer* pour le traitement à 50 p.p.m. et 130 p. 100 chez le *Sylvaner*. Chez ce dernier cépage la taille des feuilles et le poids des bois de taille sont accrus. Ils ne sont pas affectés chez les autres variétés. En janvier, lors d'un test en serre, la dormance du *Sylvaner* était plus « profonde » que celle du témoin. Par contre, au mois d'avril, il n'y eu aucun retard lors du débourrement naturel au vignoble. Il semble donc que cette dormance induite se comporte comme la dormance naturelle et soit levable par le froid en hiver.

L'effet sur la compacité des grappes a été pratiquement nul chez l'*Auxerrois*, le *Pinot blanc* et le *Pinot gris*, plus sensible chez le *Chasselas* et le *Riesling*. La compacité des grappes de *Gewurztraminer* et de *Sylvaner* était très réduite à la suite de l'élongation de la charpente : rafle et pédicelles mais aussi par suite de la « coulure ».

L'acide gibbérellique en traitement préfloral a induit une coulure en perturbant la fécondation. On observe une diminution du nombre de baies fécondées et une diminution du nombre de pépins par baie. Cet aspect a été étudié en 1962. Le nombre de baies le plus élevé a été observé lorsqu'un traitement postfloral a suivi une application préflorale. Ce résultat est dû au développement de baies qui restent herbacées

et tombent en l'absence de fécondation ou de stimulus exogène. Mais l'acide gibbérellique, même à des concentrations qui n'affectent pas la croissance d'une manière mesurable, a un effet inhibiteur sur l'initiation florale tel qu'il exclut toute possibilité d'application pratique.

Reçu pour publication en septembre 1964.

SUMMARY

INFLUENCE OF GIBBERELLIN ON SOME VARIETIES OF *Vitis vinifera* L.

In 1961, vines of *Auxerrois, Chasselas blanc, Gewurztraminer, Pinot blanc, Pinot gris, Riesling* and *Sylvaner* were sprayed at prebloom stage with gibberellin in concentrations ranging from 0 to 50 p.p.m.

The Chlorophyll level temporarily dropped in *Sylvaner* after treatments at high concentrations. Shoot lengths were measured. Increases were significant with *Gewurztraminer* and very significant with *Sylvaner*. Leaf size and pruning brush weights increased with *Sylvaner* but not with the other varieties. In January, dormancy was deeper with *Sylvaner* than with its control. In contrast, during April there was no retardation of bud-break in the vineyard due to variation in dormancy.

Clusters were not loosened with *Auxerrois, Pinot blanc* and *Pinot gris*, but were slightly loosened with *Chasselas* and *Riesling*. *Gewurztraminer* and *Sylvaner* clusters were greatly loosened. This was caused by elongation of the rachis and pedicel as well as by important berry shattering.

Gibberellin treatment at pre-bloom stage induced berry shattering by interfering with fertilisation. Berries per cluster and seeds per berry were reduced. Gibberellin treatments, therefore, substantially reduced the number of seeds per cluster. This study was continued in 1962. A combination of pre-bloom and after-bloom treatments produced the highest number of berries per cluster. This was due to the growth of berries which would normally shatter without the stimuli of fertilization or exogenous hormones. But gibberellin, even at the low concentrations that would not detectably affect shoot elongation, inhibited floral induction. This result, unfortunately, precludes practical application.

ZUSAMMENFASSUNG

EINFLUSS DER GIBBERELLIN AUF EINIGE SORTEN VON *Vitis vinifera* L.

Im Jahre 1961 wurden ausgewachsene Stöcke von *Auxerrois, Gutedel weiss, Gewurztraminer, Weissburgunder, Grauburgunder, Riesling* und *Silvaner* kurz vor der Blüte mit Gibberellin zu verschiedenen Konzentrationen (0-50 p.p.m.) behandelt.

Der Gehalt an Chlorophyl sinkt vorübergehend bei dem *Silvaner* nach den Behandlungen mit starken Konzentrationen. Die Länge der Triebe wurde gemessen. Der Zuwachs ist signifikant bei *Gewurztraminer* und hochsignificant bei *Silvaner*. Bei dieser letzten Sorte kann man eine Zunahme der Blattfläche und des Schnittholzgewichtes feststellen. Bei den anderen Sorten ist das nicht der Fall. Im Januar war die Knospenruhe des *Silvaners* « tiefer » als diejenige der unbehandelten Kontroll pflanzen. Im April war zwar keine Austriebsverzögerung zu beobachten.

Die Wirkung auf die Dichtigkeit der Trauben war unbedeutend bei *Auxerrois, Weissburgunder* und *Grauburgunder*, grösser bei *Gutedel* und *Riesling*. Die *Gewurztraminer*- sowohl als die *Silvanertrauben* waren sehr lockerbeerig, einerseits wegen der Längenzunahme der Rappen, anderseits durch eine Verrieselung.

Die Vorblütebehandlung mit Gibberellin verursachte eine Verrieselung durch Störung der Befruchtung. Man beobachtet eine Abnahme der befruchteten Beerenzahl sowie der durchschnittlichen Kernzahl pro Beere. Die höchste Beerenzahl wurde beobachtet wenn eine Nachblütebehandlung einer Vorblütenbespritzung folgte. Dieses Ergebnis ist der Entwicklung von Beeren die, bei Ausbleiben einer Befruchtung oder eines exogenen Impuls grün bleiben und später abfallen, zuzuschreiben. Aber Gibberellin besitzt, zu Konzentrationen die das Wachstum nicht wesentlich verändern, eine Hemmwirkung auf die Gescheinanlagenbildung sodass eine praktische Anwendung nicht möglich ist.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALLEWELDT G., 1960. Die Wirkung der Gibberellinsäure an Reben. *Kali Briefe*, **5**, p. 1-8.

ALLEWELDT G., 1961. Hemmung der Blütenbildung von *Vitis rupestris* durch Gibberellin. *Naturwissenschaften*, **48**, 19, p. 628-629.

BAGGIOLINI M., 1952. Les stades repères dans le développement annuel de la vigne et leur utilisation pratique. *Rev. Rom. Agric. Vitic.*, **8**, 1, 4-6.

BOLLI M., 1959. In Laborie M. E. 1963. *Ann. Physiol. vég.*, **5**, (1), 51-63.

BRANAS J. et VERGNES A., 1960. Effet des gibbérellines sur la vigne. *Prog. agric. et vitic.*, **77**, t. **154**. 19, 182-191, 20 : 220-228.

BRANAS J. et VERGNES A., 1963. Nouvelles observations sur les effets des gibbérellines sur la vigne. *Prog. agric. et vitic.*, **157**, 16, 76-83 ; 17, 107-117.

GUTTRIDGE C. G., 1962. Inhibition of fruit bud formation in apple with Gibberellic acid. *Nature*, **196**, 1008.

HABERT A. H. et TOLBERT N. E., 1957. In Laborie M. E. 1963. *Ann. Physiol. vég.*, **5** (1), 51-63.

HUGLIN P., 1958. Recherches sur les bourgeons de la vigne. Initiation florale et développement végétatif, Thèse. *Ann. Amélior. Plantes*, **8**, 113-272.

JULLIARD B., 1964. Interaction de l'auxine et de la gibbérelline sur la rhizogenèse des boutures de Vigne (*Vitis vinifera* L.). *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **258**, 5716-5719.

KINNEY Mc. G., 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem.* U. S. A., **140**, 315-322.

LABORIE M. E., 1963. Contribution à l'étude des actions de la gibbérelline et du chlorure de chlorocholine sur le métabolisme des pigments foliaires. *Ann. Physiol. vég.*, **5** (1), 51-63.

LABORIE M. E., 1963. Contribution à l'étude des actions de la gibbérelline et du chlorure de chlorocholine sur le métabolisme des pigments foliaires. *Ann. Physiol. vég.*, **5** (2), 89-113.

POUGET R., 1963. Recherches physiologiques sur le repos végétatif de la vigne (*Vitis vinifera* L.) : la dormance des bourgeons et le mécanisme de sa disparition. *Ann. Amélior. Plantes*, **13**, n° 1.

RIVES M. et POUGET R., 1959. Action de la gibbérelline sur la compacité des grappes de deux variétés de vigne. *C. R. Acad. Agric.*, **45**, 343-345.

SHAULIS N., 1959. N. Y. *Farm Research*, **25**, 11.

SPANGERSBERG G. et GAUTHERET R. J., 1964. Nouvelles recherches sur l'action de l'acide gibbérellique sur les tissus de Topinambour cultivés *in vitro*. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, **258**, 4121-4125.

STEWART W. S. et *al.*, 1958. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **72**, 165-169.

WEAVER R. J. et MC CUNE S. B., 1958. Gibberellin tested on grapes. *California Agric.*, **12**, 2-67.

WEAVER R. J. et MC CUNE S. B., 1961. Effect of gibberellin on vine behavior and crop production in seeded and seedless *Vitis vinifera*. — *Hilgardia*, **30**, 15, p. 425-444.

WILHELM A. F., 1959. Über die Wirkung von Gibberellinsäure an Reben. *Wein Wiss.*, **4**, p. 45-54.

WOLF F. T. et HABERT A. H., 1960. In Laborie M. E. 1963. *Ann. Physiol. vég.*, **5** (1), 51-63.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 79-91.

LA GERMINATION DES GRAINES DE VIGNE
I. — ESSAIS PRÉLIMINAIRES

PAR

M. RIVES

avec la collaboration technique de Marie-Madeleine OTTENWAELTER et C. BOUSSION

Station de Recherches de Viticulture,
Centre de Recherches agronomiques du Sud-Ouest, Pont-de-la-Maye (Gironde)

SOMMAIRE

Une technique de mise en germination sous brouillard permet d'augmenter la précision de l'étude de ce phénomène chez la vigne, sous l'influence de différentes substances absorbées par la graine, d'une scarification à l'acide sulfurique, des conditions subies par la plante mère au cours de la maturation, et au cours du développement de la graine.

Les travaux d'amélioration de la Vigne par voie sexuée sont rendus difficiles par un certain nombre de circonstances qui diminuent le « rendement » du travail mis en œuvre.

La castration est un premier écueil : c'est une opération difficile et pénible ; sur certains cépages particulièrement rebelles elle est presque impossible. Le rendement en pépins obtenus par grappe est variable, mais il n'est jamais élevé. Le pourcentage de la germination des graines est très variable suivant les variétés : en règle générale, il est meilleur pour les graines provenant d'« hybrides », qu'il s'agisse de producteurs directs ou de porte-greffes femelles, que pour ceux qui proviennent de variétés de *V. vinifera*. Le pourcentage de germination atteint 90 p. 100 chez les hybrides ; il dépasse rarement 30 à 35 p. cent chez les variétés européennes. Il varie également beaucoup d'une année à l'autre.

En multipliant le rendement par grappe par le pourcentage de germination, puis par le pourcentage de survie au cours des repiquages successifs, WAGNER (1962), arrive à 3,2 plants de semis établis en collection par grappe castrée ou autofécondée, pour une dizaine de variétés.

Dans ce rendement, les résultats de Wagner montrent que le pourcentage de germination est un facteur important : ayant réussi à obtenir une augmentation de 11 p. 100 à 24,5 p. 100, il a augmenté le rendement en plants établis en collection de 3,2 à 8,2 par grappe castrée ou autofécondée.

Il est donc intéressant d'étudier la possibilité d'améliorer le pourcentage de germination, donc les causes de la mauvaise germination des graines de vigne.

La technique que nous utilisions précédemment consistait à extraire les graines des baies en les nettoyant sommairement, puis à les placer rapidement, pour éviter la dessiccation, dans des pots en terre remplis de sable humide, dans une « jauge » établie à l'extérieur sous forme d'une tranchée peu profonde et recouverte de terre. Les graines restaient en stratification du mois d'octobre au mois de mars, exposées en milieu humide à la température du sol à 20 cm de profondeur. Après un lavage sur tamis pour éliminer le sable, les graines étaient semées en place, à 1 ou 2 cm de profondeur dans des châssis remplis de terreau surmonté d'une couche de sable de 5 cm d'épaisseur.

Le travail de Séchet (1962) montre que les graines mûres, desséchées naturellement jusqu'à une teneur de 11 à 12 p. 100 d'humidité ne souffrent pas une diminution de leur pourcentage de germination, même si elles sont conservées ainsi pour des périodes allant jusqu'à plusieurs mois. Scott et Ink (1950) avaient déjà vu cette possibilité, encore que dans certains de leurs essais le meilleur pourcentage de germination ait été obtenu avec des graines non séchées, mises en stratification dès la récolte. Cela nous a donné l'idée d'étudier l'action d'un certain nombre de facteurs de nature différente sur la germination, en dehors de la stratification au froid dont Séchet a montré l'efficacité. Le fait que les graines sèches absorbent 50 p. 100 de leur poids d'eau quand on les imbibe avant de les semer ou de les soumettre au froid, nous faisait espérer, en particulier, qu'elles absorberaient facilement des solutions de substances diverses parmi celle que la littérature cite comme actives sur la germination.

La nécessité d'une stratification est reconnue par de nombreux auteurs : Jurie (1894), Flemion (1937), Scott et Ink (1950) Zankov et Stoev (1962) Olmo (1942).

La variabilité du pourcentage de germination en fonction du cépage est citée par Scott et Ink (1950) et étudiée particulièrement par Olmo (1942). Snyder (1931) donne des résultats de croisements où cette variation apparaît. Il existe une variation de cep à cep à l'intérieur de la même variété. Zimmerman (1950) l'a trouvée, de même que des variations avec les années et la provenance des graines. Cependant aucune relation précise n'a pu être établie avec un ou plusieurs facteurs propres aux plantes-mères, si ce n'est que les ceps « coulards » donnent des graines qui germent mal.

Zimmerman, comme Olmo, montre que les graines provenant d'autofécondation germent plus mal que les graines obtenues sur les mêmes ceps par croisement. C'est une observation très générale qui frappe chaque fois que l'on sème côte à côte de telles descendances.

Flemion (1937) a étudié l'action du froid sur des graines conservées à sec, puis humidifiées avant la mise en stratification. Il s'agit de graines de variétés cultivées dans l'État de New York aux États-Unis, c'est-à-dire d'hybrides de *V. Labrusca*. Dans ces essais, les meilleurs résultats sont obtenus par quatre mois et demi de stratification à 5°C.

SCOTT et INK (1950) utilisent la stratification pendant 3 mois à 5°C comme terme de comparaison pour des variétés du même type américain.

Dans les expériences de SÉCHET (1962) l'optimum de germination a lieu quand les graines imbibées d'eau par trempage pendant dix jours sont ensuite conservées pendant 75 jours à 2°C.

D'une manière très générale, en dehors de l'action de froid sur les graines en milieu humide, aucun traitement, sauf peut-être l'action de l'acide sulfurique à 50 p. 100 dans les essais de SCOTT et INK (1950) n'a réussi à améliorer ou à accélérer la germination des graines de vigne, si on excepte la scarification chirurgicale du bec de la graine, conseillée par CHAUVEAUD (1894) ou la potasse des cendres de bois utilisées par JURIE (1894), qui doit avoir un effet analogue à celui de l'acide sulfurique. Ces opinions ou essais anciens reposent malheureusement sur des bases expérimentales insuffisamment précisées, comme d'ailleurs ceux de leur contradicteur d'alors (SCHRIBAUX 1894). Enfin, DELGOVA (1960) a étudié le développement de la graine dans la baie. L'endosperme se développe en 45 jours environ, après la fécondation, l'embryon restant à l'état de proembryon. Puis celui-ci s'accroît en 20 jours jusqu'à sa taille normale. A partir de ce moment, les graines peuvent germer. DELGOVA n'a pas relié la croissance et le développement de la graine aux phénomènes de la croissance de la baie, en particulier à la véraison. Nous verrons cependant l'importance apparente de ce stade dans la maturation de la graine.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Origine des graines

Nos essais de 1963 ont été faits avec des graines récoltées en janvier 1963 sur des parcelles qui n'avaient pas été vendangées. A l'état sec, ces graines avaient donc subi le froid du mois de décembre. Il s'agissait des variétés *Melon* et *Aligoté*.

Nous rapportons, d'autre part, les résultats d'un essai fait avec des graines obtenues en serre sur des plantes de *Sauvignon* cultivées en pots spéciaux sur solution nutritive et gravier.

Enfin, un essai sur la maturation des graines a été fait par prélèvement de graines à dates échelonnées du 9 juillet au 1er octobre 1963 sur des plantes de la variété *Merlau*, au champ.

Imbibition

Les graines sèches, en équilibre avec l'atmosphère du laboratoire, contiennent 10 à 15 p. 100 d'eau (perte jusqu'à poids constant à l'étuve à 110°).

Une étude de la cinétique de l'imbibition dans l'eau nous a montré que les graines atteignent l'équilibre avec l'eau, pour une teneur en eau d'environ 50 p. 100 du poids sec, après 48 heures de trempage. Pendant ce temps, elles laissent diffuser dans l'eau des substances probablement polyphénoliques, de couleur brune, plus ou moins intense suivant les cépages.

C'est donc par trempage de 48 à 72 heures qu'ont été réalisées toutes les « imbibitions » mentionnées ci-dessous, en utilisant soit de l'eau permutée soit des solutions de substances à essayer.

Traitement au froid

Le traitement au froid a eu lieu d'abord sur papier-filtre humide en boîtes de Petri, puis dans des « pilluliers » de 30 ml, fermés par un tampon de coton, sur de la perlite humide : nous avons préféré ces récipients uniquement pour une question d'encombrement.

La température utilisée était de 5°C.

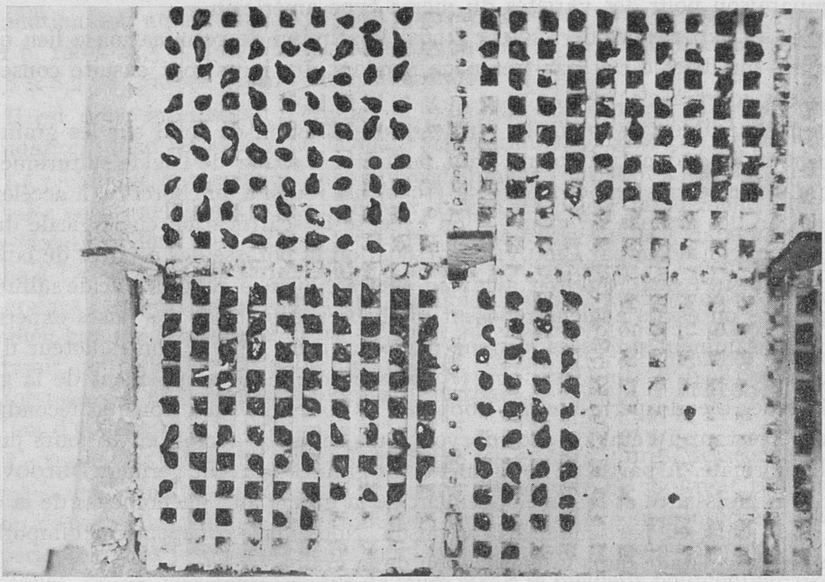


FIG. 1. — *Le grillage en polyéthylène est posé sur de la perlite contenue dans une terrine. On distingue plusieurs graines en train de germer*

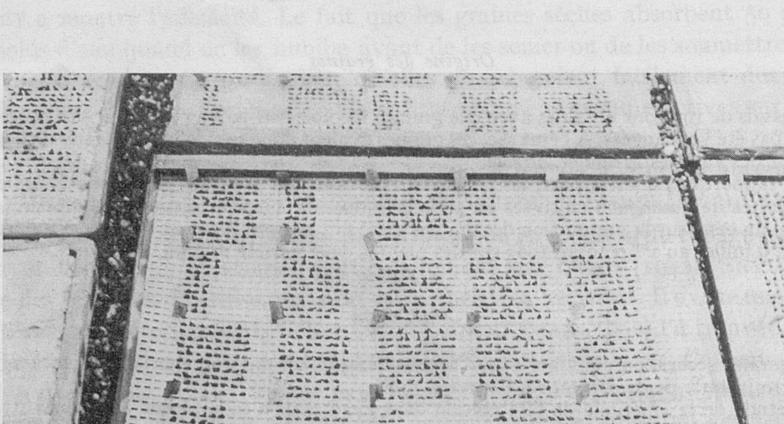


FIG. 2. — *Le grillage en polyéthylène est doublé d'une toile de nylon soudée à chaud, et tendu sur un cadre en bois*

Milieu de germination

Au début de nos essais nous avons employé le semis dans du sable fin. Mais nous nous sommes aperçus que la profondeur du semis introduit une source d'erreur, car il est très difficile de la rendre régulière, d'une terrine à l'autre et la germination, notée sur l'apparition des cotylédons au-dessus du sable, en dépend. D'autre part, l'arrosage périodique est difficile à régler.

C'est pourquoi nous avons d'abord essayé la technique de la mise en germination dans de l'eau, avec aération et agitation au moyen d'air comprimé. La technique est satisfaisante, en ce sens que les graines germent convenablement ; elle permet également de faire germer les graines dans des solutions de substances dont on veut essayer l'action sur la germination ; mais l'étude de la germination nécessite des comptages périodiques, la germination des graines de vigne étant très échelonnée dans le temps ; or ces comptages sont rendus très longs par la nécessité de vider les fioles et d'étaler les graines avant de pouvoir trier les graines germées.

Nous avons remédié à ces inconvénients en mettant les graines en germination sous brouillard continu ; les graines sont alors disposées dans les mailles carrées de 5 mm de côté d'un grillage en

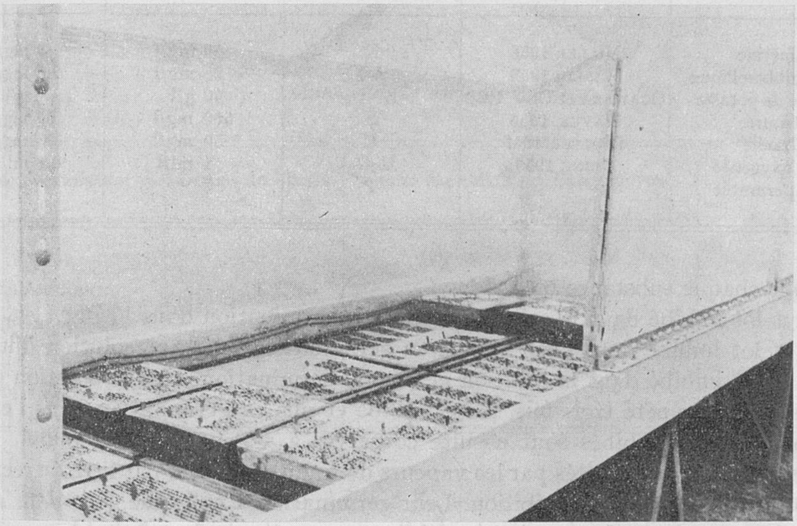


FIG. 3. — *Brouillard pneumatique continu sous tente en film de polyéthylène*

polyéthylène posé sur une terrine remplie de perlite (fig. 1), ou simplement tendu sur un cadre, après avoir été doublé à la face inférieure d'une toile de nylon soudée au fer chaud (fig. 2). Ce dispositif permet de maintenir une humidité constante et de trier très rapidement les graines germées, c'est-à-dire celles dont la radicule pointe à l'extérieur ; d'autre part, il facilite les comptages. Le brouillard est obtenu par pulvérisation d'eau par l'air comprimé à travers des pulvérisateurs à médicament. L'eau de la distribution est préalablement portée à 20°C au moyen d'un thermostat ; les tentes en film de polyéthylène sous lesquelles on entretient le brouillard sont placées dans une serre chauffée (température de la serre 15 à 30°C) (fig. 3).

ACTION DE DIFFÉRENTES SUBSTANCES SUR LE POURCENTAGE DE GERMINATION

Nous avons choisi les substances indiquées dans le tableau 1 parmi les très nombreuses substances qui sont citées comme actives dans la littérature.

Le tableau indique également pour chaque substance une référence bibliographique, les doses utilisées et l'abréviation qui la désigne dans la suite du texte.

Les substances en solution ont été administrées sous deux formes : en « pré-traitement » par imbibition dans la solution, en « post-traitement » en mettant les graines à germer dans les mêmes solutions diluées 10 fois.

L'imbibition a donc été réalisée soit par trempage dans l'eau permutée soit par trempage dans les solutions, la germination ayant lieu également soit dans l'eau permutée soit dans les solutions diluées 10 fois.

TABLEAU 1

Substance	Référence	Symbole	Prétraitement	Milieu de germination
Kinétine	MILLER 1956	K	50 mg/l	5 mg/l
Acide gibberellique	KALLIO 1959	AG	25 mg/l	2,5 mg/l
Nitrate de potasse	OGAWARA et ONO 1958	KNO_3	40 g/l	4 g/l
Thiourée	MAYER 1956	S	500 mg/l	50 mg/l
Uracile	TROTTER 1949	U	50 mg/l	5 mg/l
Eau oxygénée	CHING 1959	H_2O_2	1 ml/l	0,1 ml/l
Eau permutée		T		

Pour chaque substance on a donc :

— 1 lot imbibé dans la solution et mis en germination dans l'eau ;

— 1 lot imbibé dans l'eau et mis en germination dans une solution diluée ;

— 1 lot imbibé dans la solution et mis en germination dans la solution diluée.

Le témoin, répété trois fois, a été imbibé et mis en germination dans l'eau.

Tous les lots imbibés sont ensuite conservés à 5°C pendant 15 jours.

Deux lots ont été traités par les vapeurs de rindite à 0,4 ml par litre de récipient, l'un après, l'autre avant, imbibition. Leur germination a été nulle.

Les pourcentages de germination obtenus sont réunis dans le tableau 2.

TABLEAU 2

Mode d'administration

	Substances							
	U	S	T	K	KNO_3	AG	H_2O_2	
Solution - Eau	33	33	38	36	23	30	30	100
Eau - Solution	37	31	36	30	26	30	32	99
Solution - Solution	35	33	42	43	35	32	35	118
	108	104	115	111	96	100	103	317

Les chiffre de la dernière lignes et de la dernière colonne du tableau sont les sommes des transformées angulaires des pourcentages. Ils permettent les comparaisons.

L'analyse de variance faite sur les transformées angulaires de ces données (RIVES, 1960) figure dans le tableau 3. L'épreuve d'additivité selon TUKEY (RIVES, 1962) a également été calculée.

Les différences entre substances et les différences entre modes d'administration sont significatives. Il n'y a pas d'interaction entre les substances et les modes d'administration. Toutes les substances donnent un pourcentage de germination inférieur à celui du témoin. Ceci confirme les résultats d'essais que nous avions faits précédemment par d'autres techniques.

Il est possible qu'en essayant d'autres concentrations des mêmes substances, on obtienne des résultats meilleurs. Cependant, celles que nous avons utilisées sont de l'ordre de grandeur des concentrations données comme actives par les auteurs cités.

TABLEAU 3

Analyse de la variance

Source de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	F
Totale	20	156		
Substances	6	85	16.5	5.21
Modes d'application	2	33	14.2	4.47
Erreur	12	38	3.2	
Dont additivité	1	< 1	—	

La mauvaise germination des graines de vigne ne semble donc pas être liée à des phénomènes de la même nature que celle des graines des espèces comme la laitue, par exemple, qui répond à l'acide gibbérellique, la kinétine et la thiourée.

INFLUENCE D'UN TRAITEMENT A L'ACIDE SULFURIQUE

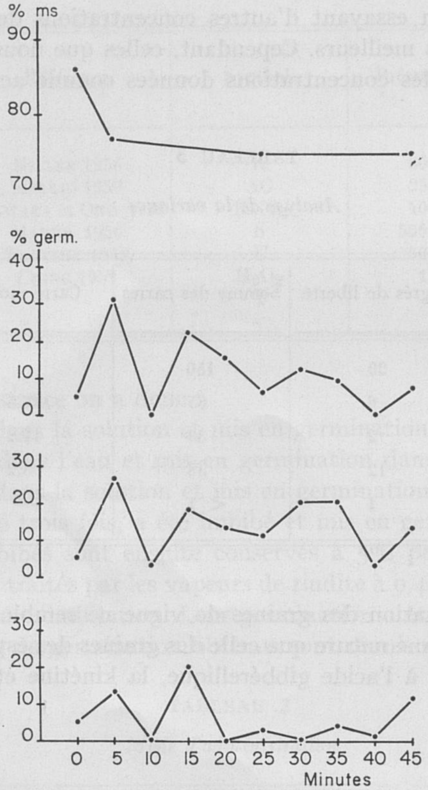
La scarification par l'acide sulfurique concentré est un moyen courant pour améliorer la germination des graines à enveloppe sclérifiée. HULL et BRITTON (1958) l'ont employée pour les akènes de *Rubus ;* SCOTT et INK (1950) l'ont employée sans succès pour les graines de vignes : mais la date de leur semis (août) laisse à penser qu'ils ont traité des graines encore humides et que la chaleur dégagée a tué les graines ; en effet l'acide sulfurique à 25 p. 100 seulement a donné de 0 à 6 p. 100 de germination contre 0 pour l'acide concentré et 0 à 4 p. 100 pour le témoin.

Nous avons pensé que le traitement des graines *sèches* ne produirait pas d'échauffement exagéré.

Les graines, placées dans des tubes en chlorure de polyvinyle fermés à la base par une feuille de polyéthylène perforée, ont été trempées pendant des durées allant

de 0 à 45 minutes dans l'acide sulfurique concentré préalablement refroidi en le plaçant dans un frigorifique.

Pour accélérer le traitement, on a réutilisé l'acide en faisant successivement, par exemple, un trempage de 5 minutes puis un de 20 minutes, pendant que l'on faisait en même temps un trempage de 10 minutes puis un de 15 minutes. Cela explique peut-être les anomalies observées dans les résultats. Malheureusement, le schéma exact des trempages n'a pas été conservé.



1) Perte de poids après traitement à l'acide sulfurique (poids initial du lot/poids sec à l'étuve).
2) Pourcentage de germination des lots semés immédiatement après le traitement.
3) Pourcentage de germination des lots traités au froid 3 semaines.
4) Pourcentage de germination des lots séchés après traitement et conservés 3 semaines à sec à la température du laboratoire.

Après le trempage dans l'acide sulfurique les graines ont été rincées à grande eau sous le robinet, trempées rapidement dans une solution de bicarbonate de soude à 10 p. 100, rincées de nouveau, essorées entre deux couches de papier-filtre, et pesées. Le traitement a pour résultat une absorption d'eau d'environ 10 p. 100 du poids sec.

Pour chaque durée de trempage on a utilisé trois lots de 100 graines. L'un a été imbibé à l'eau puis semé immédiatement, le second a été imbibé puis conservé au réfrigérateur à 5°C pendant trois semaines et semé, le troisième a été conservé tel quel au laboratoire, dans des pilluliers fermés hermétiquement, et semé en même temps que le second.

Les graines employées provenaient de la variété *Melon* et avaient été récoltées dans les mêmes conditions que celles de l'essai précédent.

Pour certaines durées de trempage (0, 5, 25, 45 minutes) un lot supplémentaire a été utilisé pour obtenir le poids sec, après 72 heures à l'étuve à 105°C.

Le graphique 1 montre la perte de poids sec correspondant à l'action de l'acide sulfurique.

Les pourcentages de germination obtenus sont résumés dans le graphique 2. On constate immédiatement des anomalies inexplicables, pour les durées 10, 25, 40 minutes. Mises à part les erreurs toujours possibles portant sur l'identité des lots, nous avons signalé que l'utilisation successive du même acide pour plusieurs traitements est peut-être la cause de ces irrégularités.

Quoi qu'il en soit, le traitement à l'acide sulfurique concentré a une nette action favorable sur la germination, même pour une faible durée de traitement (5 minutes).

GERMINATION ET DÉVELOPPEMENT DE LA GRAINE

Pour étudier l'apparition de la faculté de germer chez la graine de vigne nous avons prélevé des graines dans les baies de *Merlau* en voie de développement, du 9 juillet au 1er octobre 1962. Les prélèvements ont été faits en principe deux fois par semaine. Chaque fois un lot de 100 graines était mis à germer immédiatement sous brouillard ; un autre lot était mis immédiatement au réfrigérateur en évitant la dessiccation, puis semé après trois semaines de traitement au froid ; un troisième lot servait à la détermination des poids de la matière sèche. Les comptages ont été arrêtés pour tous les lots deux mois après le semis.

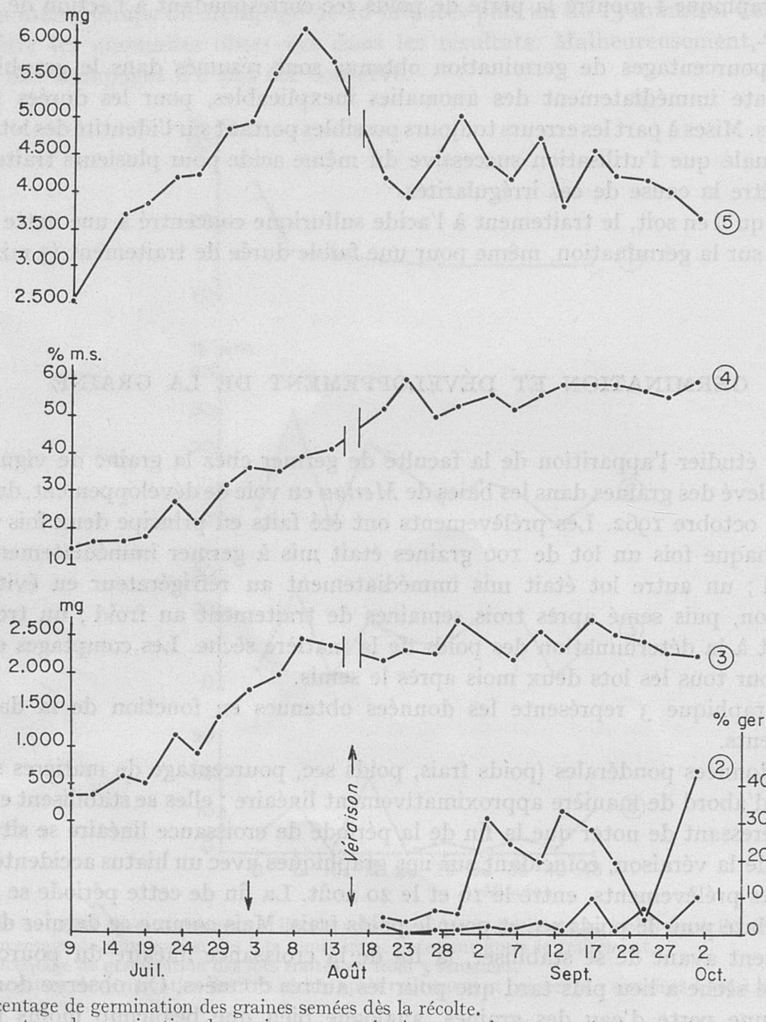
Le graphique 3 représente les données obtenues en fonction de la date des prélèvements.

Les données pondérales (poids frais, poids sec, pourcentage de matières sèches) croissent d'abord de manière approximativement linéaire ; elles se stabilisent ensuite. Il est intéressant de noter que la fin de la période de croissance linéaire se situe aux environs de la véraison, coïncidant sur nos graphiques avec un hiatus accidentel dans la série des prélèvements, entre le 16 et le 20 août. La fin de cette période se situe à la même date pour le poids sec et pour le poids frais. Mais comme ce dernier diminue brusquement avant de se stabiliser, la fin de la croissance linéaire du pourcentage de matière sèche a lieu plus tard que pour les autres données. On observe donc à ce moment une perte d'eau des graines, analogue bien que beaucoup moins nette à celle observée par Mc Ilrath et *al.* (1963) sur la tomate.

Une graine isolée du prélèvement du 2 août a germé. Mais la germination n'a été observée de manière régulière qu'à partir du prélèvement du 20 août, c'est-à-dire juste après la véraison. Le pourcentage de germination des lots de graines semées immédiatement ne dépasse jamais 10. Au contraire celui des graines humides traitées au froid, qui reste d'abord faible, s'établit brusquement aux alentours de 25 p. 100. Le faible pourcentage du lot du 24 septembre reste inexpliqué.

La fin de la période de croissance de l'embryon, à partir de laquelle la graine est capable de germer et qui est signalée par Delgova (1960) doit donc coïncider avec

la véraison. Nous n'avons pas séparé, aux alentours de cette période, les baies vérées des baies non encore vérées. Mais si notre hypothèse est juste, on doit suivre, pour l'étude de l'apparition de la faculté de germer chez la graine, comme pour celle des caractéristiques du développement de la baie (respiration, teneur en sucre, acidité),



1) Pourcentage de germination des graines semées dès la récolte.
2) Pourcentage de germination des graines conservées à 10° pendant 3 semaines avant le semis.
3) Poids sec de 100 graines.
4) Pourcentage de matière sèche dans les graines.
5) Poids frais de 100 graines.

les conclusions du raisonnement de Saulnier-Blache (1963), et étudier séparément des prélèvements situés non pas à une date donnée du calendrier, mais avant ou après la date physiologique constituée par la véraison.

Du point de vue pratique. nos observations montrent qu'on peut se dispenser, pour récolter les graines destinées au semis, d'attendre la maturité commerciale des raisins, ce qui présente de sérieux avantages en éliminant une partie des risques de

pertes par les dégâts des oiseaux (ou l'inattention des vendangeurs). En utilisant immédiatement la stratification, on peut, si l'on dispose d'une serre, faire les semis très tôt et allonger ainsi le premier cycle de végétation des plants de semis, en utilisant, dans des conditions encore plus favorables, les résultats d'HUGLIN et JULLIARD (1964) sur la mise à fruit.

INFLUENCE DES CONDITIONS DE CULTURE DES PLANTES-MÈRES SUR LA GERMINATION DES GRAINES

En 1963, nous avions cultivé, pour d'autres expériences, en serre, sur solution nutritive et sur gravier, des plantes de *Sauvignon*. Notre expérience nous a toujours montré que les graines de cette variété germent très mal. Nous avons récolté des raisins mûrs obtenus sur ces plantes dès le 5 juillet 1963, soit environ 80 jours avant la date moyenne de maturité des baies au champ.

TABLEAU 4

Traitement	Date de semis				
	0	14	28	42	56
Conservation à sec	3	19	33	20	16
Imbibition avant semis	8	36	25	22	22
Imbibition à 0 puis froid	20	18	38	30	34

Les graines obtenues ont été réparties en cinq séries correspondant à cinq dates successives, 0, 14, 28, 42, 56 jours après la récolte. Pour chaque série un lot de 100 graines a été semé tel que,un autre après imbibition à la date correspondante ; un troisième lot, imbibé à la date 0 jour a été conservé au réfrigérateur pendant 14, 28, 42, 56 et 70 jours avant d'être semé : le semis de ce troisième lot a donc été décalé de 14 jours par rapport aux deux autres lots de la série.

Les pourcentages de germination observés sont réunis dans le tableau 4.

En raison du traitement très différent des lots de la troisième série, il est difficile de comparer date par date ces graines à celles des autres séries. L'action favorable de la stratification humide qui se stabilise à partir de 42 jours est cependant évidente. Une sorte de maturation semble s'être opérée à sec entre la première et la deuxième série et l'imbibition en elle-même semble favorable.

Ce qui est beaucoup plus important, c'est le pourcentage de germination obtenu. En effet, les pourcentages observés sur des graines de *Sauvignon* récoltées à maturité au champ la même année n'ont jamais dépassé 10 p. 100 même après stratification.

En confirmant ceux de WAGNER (1962) nos résultats montrent tout l'intérêt

qu'il faut apporter à l'état physiologique des plantes-mères sur lesquelles sont faits les croisements ou les autofécondations si on veut assurer un bon rendement à ces opérations.

CONCLUSION

Fragmentaires, souvent peu cohérents, ces résultats préliminaires, qui sont en cours de vérification, ont le mérite d'étayer ceux qui sont épars dans la littérature et d'ouvrir des perspectives directement applicables dans la pratique. Si l'action des substances que nous avons essayées est nulle, l'action des conditions de la plante-mère, la scarification à l'acide sulfurique, la stratification au réfrigérateur permettent une amélioration sensible du rendement des opérations coûteuses de croisement et d'autofécondation et une accélération supplémentaire de la mise à fruit des plants de semis obtenus.

Au cours de nos études, nous avons d'autre part mis au point une technique de mise en germination qui permet d'observer celle-ci avec précision ; le repiquage des graines germées au fur et à mesure de leur apparition permet, de plus, d'utiliser la place disponible pour l'élevage des plants de semis avec le maximum d'efficacité, en réalisant une densité homogène quelles que soient les variations du pourcentage de germination des graines.

Reçu pour publication en octobre 1964.

SUMMARY

VINE SEEDS GERMINATION.
PRELIMINARY EXPERIMENTS

A technique has been designed to perform germination tests : the grape seeds are exposed on polyethylene screens under a continuous pneumatic water mist, keeping them under a uniform humidity regime and allowing a quick periodic survey of germination as noted by the emergence of the radicle (fig. 1, 2, 3,). No substance among those tested (table 1) has been able to improve percent germination. Sulfuric acid scarification has a definite enhancing effect on germination percentage. Good cultural conditions for mother plants improve the germinating ability of their seeds.

Germinability establishes itself at the time of *véraison* (color change).

ZUSAMMENFASSUNG

DIE KEIMUNG DER SAMEN DER REBE.
I. VORLÄUFIGE VERSUCHE

Diese vorläufigen Ergebnisse deren Bestätigung zu erwarten ist, haben das günstige Resultat, die in der Literatur bekannten Angaben zu bestärken und Perspektiven zu eröffnen, die direkt in der Praxis ausgenützt werden können.

Wenn die von uns probierten Stoffe ohne Einwirkung sind, so stellt der Einfluss auf die Beschaffenheiten der Mutterpflanze, das Schröpfen mit Schwefelsäure und die Schichtung im Kühlschrank eine bedeutende Verbesserung der Kostspieligen Kreuzungs-und Selbstbefruchtungprozesse, sowie eine zusätzliche Belschleunigung der durch Saaten erhaltenen Setzlinge, dar.

Ausserdem haben wir im Laufe unserer Untersuchungen eine keimungsfördernde Technik ausgearbeitet die eine präzise Beobachtung der Keimung bemöglicht. Das Pikieren der gekeimten Samen jeweils nach dem Aufgehen, erlaubt ausserdem, den verfügbaren Raum für eine Aufzucht von samenpflanzen äusserst wirksam zu verwenden, indem eine homogene Verteilung, ungeachtet Variationen des Keimungsprozentsatzes der Samen, erreicht wird.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAUVEAUD G., 1894. Moyen d'assurer et de rendre très hâtive la germination des graines de vignes. *C. R. Acad. Sci.*, **118**, 211-212.

CHAUVEAUD G., 1894. Germination des graines de vignes. *Rev. Vitic.*, **2**, 44-45.

CHING T. M., 1959. Activation of germination in *Douglas* fir seed by hydrogen peroxyde. *Plant. Physiol.*, **34**, 557-563.

DELGOVA A. E., 1960. [The cause of low germination in grape seeds.] (En russe) *Agrobiologia.*, **2**, 302-303.

FISCHNICH O., GRAHL A. et THIELEBEIN M., 1958. Aufhebung der Keimruhe bei Gerste durch Rindite. *Landbau Forschung.*, **8**, 4-6.

FLEMION F., 1937. After-ripening at 5°C favors germination of grape seeds. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, **9**, 7-15.

HUGLIN P., JULLIARD B., 1964. Obtention de semis de vignes très vigoureux à mise à fruits rapide et ses répercussions sur l'amélioration génétique de la Vigne. *Ann. Amélior. Plantes.* (Sous presse.)

HULL J. W., BRITTON D. M., 1958. Development of colchicine-induced and natural polyploid breeding lines in the genus *Rubus* (TOURN.) L. *Univer. of Maryland, Agric. Exp. Sta. Bull.*, **A-91**.

JURIE A., 1894. Préparation culturale des graines de vignes. *Rev. Vitic.*, **2**, 67.

KALLIO P., PIIROINEN, 1959. Effect of gibberellin on the termination of dormancy in some seeds. *Nature*, **183**, 1830-1831.

MC ILRATH W. J., ABROL Y. P., HEILIGMAN F., 1963. Dehydration of seeds in intact tomato fruits. *Science*, **142**, 1681-1682.

MAYER A. M., 1956. The action of thiourea as a germination stimulator. *J. Exp. Bot.*, **7**, 93-96.

MILLER C. O., 1956. Similarity of some kinetin and red light effects. *Plants. Physiol.*, **31**, 318-319.

OGAWARA K. et ONO K., 1958. Studies in the germination of *Portulaca grandiflora* seeds I. *J. Hort. Ass. Japan.*, **27**, 193-200.

OLMO H. P., 1942. Choice of parent as influencing seed germination in fruits. *Proc. Amer. Soc. hortic. Sci.*, **41**, 171-175.

RIVES M., 1960. Sur l'analyse de la variance. I. Emploi de transformations. *Ann. Amélior. Plantes.*, **10**, 309-331.

RIVES M., 1962. Sur l'analyse de la variance. II. L'additivité. *Ann. Amélior. Plantes*, **12**, 5-18.

SAULNIER-BLACHE F., 1963. Étude du développement du raisin : I. Croissance, accumulation des protéines et respiration pendant le passage de la phase végétative à la maturation. *Ann. Physiol. vég.*, **5**, 217-228.

SCHRIBAUX E., 1894. Germination des graines de vignes. *Rev. Vitic.*, **1**, 669-671.

SCOTT D. H., INK D. P., 1950. Grape seed germination experiments. *Proc. Amer. Soc. hortic. Sci.*, **56**, 134-139.

SÉCHET J., 1962. Influence des basses températures sur la germination des graines. *C. R. Acad. Sci.*, **255**, 2653-2655.

SNYDER E., 1931. A preliminary report on the breeding of *Vinifera* grape varieties. *Proc. Amer. Soc hortic. Sci.*, **28**, 125-130.

TROTTER W. R., 1949. Effect of thiouracil and uracil on the germination of cress seeds. *Nature*, **164**, 63.

WAGNER E., 1962. Gewinnung von *Vitis* — Pollen für Kreuzungswecke. I Auswirkungen des Vortreibens der Reben. *Vitis.*, **3**, 117-129.

ZANKOV Z., STOEV K., 1962. (Sur le traitement préalable des pépins de vignes et l'époque de l'ensemensement.) (En bulgare.) *Isv. Inst. Et. Rech. Vitic. Enol. Pleven.*, **3**, 23-49.

ZIMMERMAN J., 1950. Selbstungen und Kreuzungen bei der Rebe (Gattung *Vitis*) Beobachtungen und Ergebnisse der Jahre 1938-1948. *Züchter.*, **20**, 81-91.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 93-97.

ÉTUDE DE LA RÉSISTANCE A L'OÏDIUM CHEZ LE POIS

R. COUSIN

Station centrale de Génétique et d'Amélioration des plantes
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

I. — SOMMAIRE

Les infections naturelles d'Oïdium du Pois : *Erysiphe polygoni* DC. ont été virulentes en 1961, 1962, 1963, ce qui nous a permis de juger le comportement d'environ quatre cents variétés vis-à-vis de ce parasite.

La variété *Stratagem rcsistant,* décrite par PIERCE comme résistante, s'est révélée trés légèrement sensible à l'inoculum existant à Versailles, par contre certaines lignées tirées de population mexicaine et péruvienne ont été pratiquement indemmes d'Oïdium.

L'étude génétique montre que les résistances portées par *Mexique* et *Stratagem resistant* sont unifactorielles récessives. Elles sont conditionnées par le même gène puisque la F_1 du croisement effectué entre ces géniteurs est résistante.

La résistance des lignées du Mexique semble suffisante pour être retenue dans un programme d'amélioration du Pois.

II. — INTRODUCTION

L'Oïdium du Pois est provoqué par un champignon du groupe des Périsporiales, *Erysiphe polygoni* DC, qui attaque également de nombreuses autres espèces : trèfles, luzerne, tomate et cucurbitacées. Son mycélium rampe à la surface de l'organe atteint en formant un feutrage blanchâtre recouvrant tous les organes aériens et envoyant çà et là des suçoirs dans les cellules épidermiques. Les taches mycéliennes prennent rapidement un aspect farineux dû à la production abondante de conidies. En cas de forte attaque, de nombreuses taches brunes apparaissent sous le mycélium. Elles nuisent à la commercialisation des gousses.

D'après WARK, la sensibilité des tissus dépend de leur âge physiologique. Les tissus résistants au stade jeune, deviennent rapidement sensibles.

L'oïdium qui apparaît d'abord dans le midi de la France, progresse vers le nord au cours du mois de juillet. Il constitue partout un des facteurs limitant le développement des cultures tardives. Son importance économique nous a incité à rechercher des géniteurs de résistance et à étudier l'hérédité de ce caractère.

L'existence de plusieurs races physiologiques n'a pu être mise en évidence puisqu'on ne possède actuellement aucun hôte différentiel à l'intérieur de l'espèce.

III. — MATÉRIEL ET TECHNIQUES

La maladie étant naturellement généralisée il n'a pas été nécessaire de mettre au point une technique d'infection artificielle. L'observation a suffi pour étudier le comportement des différentes variétés de la collection vis-à-vis de ce parasite.

La collection comprend environ quatre cents variétés et une cinquantaine de types sauvages plus ou moins fixés. On observe toute une gamme de sensibilité suivant les variétés : sensibilité très grande qui est le cas presque général, sensibilité légèrement atténuée pour les variétés : *Anik*, *Duc d'Albany à feuillage blond*. *Feltham first*, *Gullivert*, *Ridé vert de Knight*, *Roi des serpettes*, très faible pour *Stratagem resistant* et enfin pratiquement nulle pour certaines lignées tirées de matériel originaire du Mexique et du Pérou. Toutes ces lignées, pourtant d'origines différentes, présentent le même type morphologique : tardif, haut, à fleurs blanches et à gains lisses et jaunes. Elles paraissent encore plus résistantes que *Stratagem resistant*. Il ne s'agit pas cependant d'une immunité car on observe parfois de légères taches mycéliennes sur feuilles.

Les deux géniteurs de résistance ont été croisés entre eux, et avec *Lancet*, *Fakir* et *Serpette nain cent pour un*, variétés cultivées très sensibles, dans le but de préciser l'hérédité du caractère.

Les différents croisements ont été effectués en serre pendant l'hiver 1962-1963, et les plantes F_1 et F_2 jugées au champ. Seule une partie de la descendance du croisements *Mexique* × *Lancet* a pu être jugée en serre.

IV. — RÉSULTATS

1. *Étude génétique de la résistance de Mexique*

Les plantes F_1 issues des croisements avec *Lancet*, *Fakir*, *Serpette nain cent pour un* sont sensibles : la résistance est donc récessive.

Les disjonctions F_2 observées au champ et en serre sont rassemblées dans le tableau 1.

TABLEAU I

	Nombre de plantes résistantes	Nombre de plantes sensibles	χ^2 1 — 3 < 3,84 pour 1 d° de liberté et P = 0,05
1. Observations au champ			
Mexique × *Lancet*			
observé	90	277	
théorique	91,75	275,25	0,04
Mexique × *Fakir*			
observé	97	353	
théorique	112,5	337,5	2,8
Serpette nain cent pour un × *Mexique*			
observé	47	172	
théorique	54,75	164,25	1,4
2. Observations en serre			
Mexique × *Lancet*			
observé	28	62	
théorique	22,5	67,5	1,8
3. Total			
observé	262	864	
théorique	281,5	844,5	1,8

Les résultats obtenus en serre et au champ sont comparables et compatibles avec l'hypothèse 1-3. L'étude en serre des lignées F_3 d'une partie de la descendance du croisement *Mexique* × *Lancet* vérifie également l'hypothèse d'une résistance monofactorielle récessive (tabl. 2).

TABLEAU 2

Lignées F_3	Nombre de lignées résistantes	Nombre de lignées en disjonction	Nombre de lignées entièrement sensibles	χ^2 1-2-1 < 5,99 pour 2 d° de liberté et P = 0,05
Mexique × *Lancet*				
observé	28	37	25	
théorique	22,5	45	22,5	3,05

2. *Étude génétique de la résistance de* Strategem resistant

Les plantes F_1 issues des croisements avec *Lancet* sont sensibles.

Les disjonctions observées en F_2 et rassemblées dans le tableau 3 suggèrent à nouveau l'existence d'une résistance monofactorielle récessive.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par PIERCE en 1948.

TABLEAU 3

	Nombre de plantes		χ^2 1-3 < 3,84 pour 1 d° de liberté et P = 0,05
	résistantes	sensibles	
Stratagem resistant × *Lancet*			
observé	24	86	
théorique	27,5	82,5	0,6
Lancet × *Stratagem resistant*			
observé	14	38	
théorique	13	39	0,1
Total			
observé	38	124	
théorique	40,5	121,5	0,2

3. *Étude comparative des deux résistances*

Si on effectue le croisement entre ces deux géniteurs, les plantes F_1 sont du niveau de résistance de la variété *Stratagem resistant*. Les résistances étant monofactorielles récessives, il faut admettre qu'un même gène est en cause dans les deux sources de résistance.

V. — DISCUSSION

Bien que la résistance soit conditionnée par un même gène, une différence de niveau de résistance semble exister entre les géniteurs. Cette différence apparaît également entre les plantes F_2 résistantes issues des croisements *Mexique* × *Lancet* et *Stratagem resistant* × *Lancet*. Pour expliquer ces observations plusieurs hypothèses peuvent être émises, en particulier : les géniteurs possèderaient des allèles de résistance différents.

Nous avons donc examiné la F_2 du croisement *Mexique* × *Stratagem resistant*, mais les différences de sensibilité sont trop faibles pour permettre le classement des phénotypes en deux groupes. La notation en F_3 par suite de l'effet de masse sur la ligne pourra peut-être trancher l'hypothèse de deux allèles.

Cette résistance à l'Oïdium du Pois pourrait être comparée à celle signalée en 1948 par HARLAND qui notait 10 p. 100 de plantes résistantes dans un lot de pois récolté à Huancabamba, localité située à 2 000 mètres d'altitude dans la Cordillière des Andes : plantes tardives, à fleurs colorées dont la résistance est monofactorielle récessive. L'auteur signale d'autre part la présence dans cette région de nombreux xylocopes effectuant des croisements naturels. Les mêmes gènes de résistance pourraient donc exister dans différents types. Cependant en 1950, WARK précisait que les variétés du Pérou ne présentaient aucune résistance particulière en Australie.

VI. — REMERCIEMENTS

Nous remercions la *North Central Plant Introduction Station* à Ames, Iowa, pour l'envoi des semences originaires du Mexique et du Pérou, ainsi que la Station de Wisconsin pour *Stratagem resistant*.

SUMMARY

A STUDY OF OIDIUM RESISTANCE IN PEAS

Natural oidium infection of peas — *Erysiphe polygoni* DC — was virulent in 1961, 1962, and 1963. This allowed us to assess about four hundred varieties for their resistance to this parasite.

Certain lines drawn from original stock in Mexico and Peru showed themselves to be practically undamaged by oidium, and the « *Resistant stratagem* » provided by the Wisconsin station was very slightly sensitive to the inoculum in existence at Versailles.

The genetic study shows that resistance of « *Mexique* » and « *Stratageme resistant* » are monofactorial and recessive. They are on the dependance of the same gene, as the F_1 from cross between this parents is resistant.

The resistance of the lines from Mexico seems sufficient for it to be included in a programme of pea improvement.

Reçu pour publication en septembre 1964

ZUSAMMENFASSUNG

UNTERSUCHUNG DER WIDERSTÄNDSFAHIGKEIT VON ERBSEN GEGEN OÏDIUM

I. INHALTSVERZEICHNIS

In den Jahren 1961, 1962, 1963 waren die natürlichen Infektionen durch Oïdium der Erbse : *Erysiphe polygoni* DC virulant. Es war daher möglich, das Verhalten von ungefähr vier hundert Erbssorten gegenüber diesem Parasiten zu beurteilen.

Bestimmte Nachkommenschaften, die aus von Mexiko und Peru stammenden Sorten erhalten wurden, erwiesen sich als praktisch oïdiumfest. Der von der Prüfungsanstalt in Wisconsin gelieferte *Stratagème résistant* erwies sich als sehr leicht empfindlich gegenüber dem in Versailles vorhandenen Inokulum.

Die genetische Untersuchung beweist, dass die Widerstandsfähigkeit der Sorten *Mexique* und *Stratagem resistant* in beiden Fällen monofactoriel rezessiv ist. Es handelt sich um dasselbe Gen, denn die F_1 der Kreuzung ist als resistent anzuschen.

Die Widerstandsfähigkeit der aus Mexiko stammenden Nachkommenschaften scheint genügend zu sein um dieselben für einen Plan zur Verbesserung der Erbssorten zu benutzen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

HARLAND S. C., 1948. Inheritance of immunity to mildew in peruvian forms of *Pisum sativum*. *Heredity*, **2**, 263-269.

PIERCE W. H., 1948. Resistance to powdery mildew in peas. *Phytopathology*, **38**, 21.

WARK D. C., 1950. The susceptibility of peas to four diseases occuring naturally in the australian capital territory. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.*, **16**, 32-38.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (1), 99-106.

MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

CARACTÈRES A DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE SIMPLE CHEZ *PRUNUS PERSICA* STOKES

R. MONET

Station de Recherches d'Arboriculture fruitières,
Centre de Recherches agronomiques du Sud-Ouest Pont-de-la-Maye (Gironde)

INTRODUCTION

Il faut sans doute attribuer à BLAKE et à CONNORS, de la Station expérimentale du New Jersey, à New Brunswick, les premiers résultats concernant l'étude génétique du Pêcher ; leurs publications s'échelonnent de 1916 à 1946. En 1917, la Station du Massachusetts, sous l'impulsion de SHAW, établit un programme de recherches qui sera poursuivi jusqu'en 1945 (publications de BAILEY et FRENCH).

D'autres chercheurs s'intéressent à ces questions ; les principaux sont : LESLEY, de la Station expérimentale de Riverside, en Californie, WEINBERGER, à Fort Valley, enfin LAMMERTS, de l'Université de Californie.

En Europe, on relève quelques études des Italiens BALDINI et AGATI. En France, de 1946 à 1954, Georgette SANFOURCHE, à la Station de Recherches d'Arboriculture fruitière de La Grande-Ferrade, étudie les descendances d'une soixantaine de variétés autofécondées ou non et de 16 croisements intervariétaux. Les résultats, non publiés, ont permis de vérifier le comportement héréditaire de quelques caractères monofactoriels de la feuille (nectaires), de la fleur et du fruit.

Bien que ces résultats ne soient ni récents ni nombreux, ils présentent un grand intérêt pour l'amélioration du Pêcher.

I. — PEUT-ON CONCEVOIR UNE ÉTUDE GÉNÉTIQUE SUR LE PÊCHER ?

Tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître que le Pêcher est l'une des espèces fruitières la plus favorable aux études génétiques.

— Sa période juvénile est courte, comparée aux autres espèces ligneuses (dès la troisième année, on peut espérer obtenir des fruits sur des plants de semis.)

— Il n'y a pas d'obstacles à l'autofécondation et à l'hybridation, et les semis provenant de pollinisations libres sont généralement des autofécondations.

— Cette espèce est diploïde, à faible nombre de chromosomes : $2n = 16$.

Malgré ces avantages, les résultats acquis sont disparates et bien souvent confus (ainsi rassemble-t-on côte à côte des observations à déterminisme simple, comme la pigmentation du feuillage, des observations à déterminisme complexe, comme l'époque de maturité, voire même des résultats de croisements interspécifiques).

Il n'y a pas eu d'inventaire systématique des mutations naturelles, ceci explique probablement le nombre peu élevé de caractères analysés.

Nous nous efforcerons de mettre en relief ce qui peut être considéré comme définitivement acquis, dans le cas de caractères à déterminisme simple. Auparavant, nous aborderons une question extrêmement importante : quels sont les effets de l'inbreeding ou de l'hétérosis chez le Pêcher ?

II. — EFFETS D'INBREEDING ET D'HÉTÉROSIS

Lesley a publié une étude intéressante sur les effets d'inbreeding et d'hétérosis (1957). Cet auteur soumet un certain nombre d'hybrides entre variétés commerciales à des autofécondations contrôlées successives. En 1957, lorsqu'il publie ses travaux, il est en possession de « lignées » ayant subi cinq, six, et même sept cycles d'autofécondations, ce qui est remarquable.

Au cours de ce travail, il observe :

• Un effet d'inbreeding variable selon les croisements du départ (il peut être dépressif ou non).

• Dès la F_2 et les générations suivantes, des caractères récessifs connus chez les parents réapparaissent. D'autres caractères, qui étaient inconnus, peuvent s'extério extérioriser.

• Une homogénéisation des « lignées », dès la F_4, en particulier pour l'époque de maturité des fruits.

En croisant deux lignées assez proches de l'homozygotie, Lesley obtient :

• Des F1 généralement uniformes,

• Une vigueur de la F_1 (mesurée par le diamètre du tronc)| supérieure dans la plupart des cas à celle des parents.

• La disparition de l'effet d'inbreeding (caractères désavantageux).

• Les F_1 lui permettent de vérifier la dominance de certains caractères.

L'auteur conclut à l'intérêt de l'une des F_1 : (7×50) et propose la multiplication par graines, qui a « l'avantage de réduire le grave problème des maladies à virus, tout en permettant des cultures homogènes ».

Abordons dès maintenant l'étude génétique proprement dite.

III. — COMPORTEMENT GÉNÉTIQUE DE QUELQUES MUTANTS BIEN DÉFINIS

Pour clarifier l'ensemble de la question, nous nous limiterons aux mutants ayant pour origine une mutation génique spontanée. Dans ce cas, parmi les formes alléliques existantes d'un caractère donné, nous ne distinguerons pas toujours la

forme allélique normale (sauvage) de la forme allélique mutante, cette distinction ne pouvant se faire que par référence à la population naturelle d'où provient le mutant.

Cas de mutations affectant une fonction physiologique

Albinisme. — CONNORS (1925) utilise dans ses croisements une variété qu'il qualifie d'albinos. Pour BAILEY et FRENCH (1932), il ne s'agirait pas d'une forme albinos, mais de la variété *Summer-Snow* (ou d'un individu portant le même caractère) : « qui a perdu toute coloration excepté le vert ». Ces deux auteurs observent, dans la descendance par autofécondation de la variété *Champion*, des plantules albinos « qui meurent dès que les réserves de la graine sont épuisées ». Cet albinisme strict est monofactoriel et récessif (Symbole C — *c*).

Nanisme. — Plusieurs mutants nains existent chez le Pêcher ; nous retiendrons celui utilisé par LAMMERTS (1945) : *Chinese Dwarf*. — Ce caractère est monofactoriel et récessif (Symbole D*w* — *dw*).

LAMMERTS étudie aussi le comportement du caractère « port en buisson » (*bushy*), qui résulte de la présence simultanée de deux gènes récessifs, bu_1 et bu_2 (disjonction 15 — 1).

Stérilité mâle. — La stérilité mâle par avortement des microspores avant leur émission est assez répandue chez le Pêcher. CONNORS (1923) observe cette stérilité dans plusieurs populations issues de semis. Les comptages qu'il réalise s'ajustent correctement aux proportions 3-1 (3 fertiles pour 1 stérile).

Ces observations sont confirmées par BLAKE, BLAKE et CONNORS, enfin par SCOTT et WEINBERGER.

La stérilité-mâle est un caractère récessif, monofactoriel (Symbole P*s* — *ps*).

Mutations affectant le feuillage

Couleur rouge du feuillage. — HEDRICK signale en 1917 une disjonction 3 — 1 dans un semis issu de pollinisations libres à partir de l'arbre *Bloof Leaf* (sur 252 plantules, 189 étaient à feuilles rouges, 63 à feuilles vertes). Il y a donc dominance du caractère « feuilles rouges ». Les confirmations de ces résultats seront nombreuses : CONNORS, croisant un type à feuilles rouges dénommé *Bound Brook*, avec la variété *Elberta*, obtient 7 plantules F_1 à feuilles rouges.

BLAKE (1938), par autofécondation des types *Bound Brook* et *Red A*, observe une descendance uniformément rouge. Le type hétérozygote *Red B* se distinguerait par un feuillage rouge-gris. Cette hétérozygotie de *Red B* est confirmée par « *test cross* », qui donne 49 individus à feuilles rouges et 44 à feuilles vertes, chiffres en accord avec les proportions 1 — 1.

En définitive, le caractère « feuilles rouges » est dominant et monofactoriel (Symbole R — *r*).

Nectaires foliaires. — Organes très caractéristiques situés sur le pétiole de la feuille et à la base du limbe ; ils présentent un intérêt systématique particulier.

GREGORY (1918) a bien montré qu'il existe des variations dans la forme des nectaires ; cependant, on s'accorde à distinguer trois phénotypes :

absence de nectaires,
nectaires réniformes,
nectaires circulaires.

Ce caractère est à contrôle monofactoriel avec dominance incomplète ; lorsqu'on croise un type à nectaires réniformes par un type sans nectaire, la F_1 possède des nectaires circulaires ; dans la F_2, on observe une disjonction 1 — 2 — 1 (CRANE, CONNORS, BLAKE et CONNORS, BAILEY, BAILEY et FRENCH, etc., Symbole E — *e*).
Remarque. — Le caractère absence de glande est lié à une sensibilité à l'oïdium (*Sphaerotheca pannosa*). Cet effet pléïotrope désavantageux du gène explique la faible fréquence des variétés cultivées ne possédant pas de nectaires foliaires (WATKIN WILLAMS et A. G. BROWN, 1956).

Ondulation du bord de la feuille. — Le bord de la feuille peut être lisse ou ondulé (*Wavy*). Le type ondulé serait récessif et monofactoriel, d'après CULLINAN (Symbole Wa — *wa*).

Mutations affectant la fleur

Types de fleurs. — CONNORS avait distingué trois types de fleurs en faisant intervenir la taille de l'organe : fleurs grandes, moyennes et petites. Le type moyen était hétérozygote, d'après cet auteur.

BAILEY et FRENCH (1942) contestent cette interprétation et distinguent seulement deux types de fleurs :

la fleur rotacée ou rosacée (*Showy*) ;
la fleur campanulée (*Nonshowy*).

Le type campanulé est dominant. Ce caractère est monofactoriel (Symbole S*h*-*sh*).

Caractères de la fleur.

Fleurs doubles. — Les pêchers à « fleurs doubles » (recherchés en culture ornementale) possèdent un nombre plus ou moins élevé de pétales surnuméraires. Une étude complète de ce caractère est due à LAMMERTS (1945). Il utilise à cet effet des variétés à fleurs doubles : *Early Double Pink* (12 à 16 pétales) et *Early Double Red* (18 à 24 pétales) qu'il croise avec la variété *Babcock* à fleurs normales.

LAMMERTS établit ainsi que le caractère « fleurs doubles » est déterminé par trois gènes : un gène conditionnel récessif d_1 et deux gènes modificateurs du nombre de pétales surnuméraires, soit dm_1 et dm_2.

Présisons un peu ce déterminisme. Pour qu'il y ait des pétales supplémentaires, il faut que l'individu possède nécessairement le gène d_1 à double dose ; l'intervention des gènes dm_1 ou dm_2 modifiera le nombre des pétales surnuméraires. Ainsi, la variété *Babcock* de génotype $D_1D_1Dm_1Dm_1$, croisée avec la variété *Early Double Pink*, de génotype $d_1d_1dm_1dm_1$, donne un hybride à fleurs normales, de génotype $D_1d_1Dm_1dm_1$

Si l'on réalise un « *test cross* » en croisant cet hybride avec le double récessif *Early Double Pink*, on doit obtenir :

— la moitié des individus à fleurs normales,

$$\text{Génotypes} \begin{cases} D_1d_1,\ dm_1dm_1 \\ D_1d_1,\ Dm_1dm_1 \end{cases}$$

— un quart des individus à fleurs doubles avec 1 à 5 pétales surnuméraires,

$$\text{Génotype} \quad d_1d_1,\ Dm_1dm_1$$

Liste des gènes connus

(d'après Bailey et French, avec modifications)

	Dominant	Récessif	Gène	Auteur	Date	Symboles suggérés
Fonctions physiologiques	Normal	Albinos	C — *c*	Bailey et French	1941	
	Normal	Nain	D*w* — *dw*	Lammerts	1945	
	Normal	en buisson	Bu_1 — bu_1	Lammerts	1945	
	Normal	en buisson	Bu_2 — bu_2	Lammerts	1945	
	♂ fertile	♂ stérile		Scott et Weinberger	1944	P*s* — *ps*
Feuillage	Rouge	Vert		Blake	1938	G*r* — *gr*
	Nectaires réniformes	Nectaires absents		Connors	1922	E — *e*
	Feuille à bord lisse	Feuille à bord ondulé		Scott Cullinan	1944	W*a* — *wa*
Fleur	Campanulée	Rosacée	S*h* — *sh*	Bailey et French	1942	
	Simple	Double	D_1 — d_1	Lammerts	1945	
	Pétales en surnombre	Gènes Modificateurs	Dm_1 — dm_1 Dm_2 — dm_2	Lammerts	1945	
	Couleur rose	Couleur rouge	R — *r*	Lammerts	1945	
	Rose sombre	Rose clair	P — *p*	Lammerts	1945	
	Coloration	— absence de coloration — bigarrure*	W — *w* — w^v	Lammerts	1945	
Fruit	Aplati (*peento*)	Normal	S — *s*	Lesley	1940	
	Normal	Sans pubescence (Nectarine)		Blake	1933	G — *g*
	Chair blanche	Chair jaune	Y — *y*	Connors	1920	
	Noyau libre	N. adhérent (*cling*)*	F — *f*	Bailey et French	1933	
	Chair fondante	Non fondante*	M — *m*	Bailey et French	1933	
	Chair molle	Chair ferme*	S*t* — *st*	Bailey et French	1941	

* = non définitif.

— un quart d'individus à fleurs doubles avec 10 à 16 pétales:

Génotype d_1d_1, dm_1dm_1.

La variété *Early Double Red* possède, par contre, un nouveau couple d'allèles modificateurs dm_2dm_2. Croisée avec *Babcock*, elle donne un hybride de génotype : D_1d_1, Dm_1dm_1, Dm_2dm_2.

On peut aussi prévoir les résultats du *test cross* avec *Early Double Red*.

Coloration de la fleur. — D'après LAMMERTS (1945) encore, la couleur de la fleur est contrôlée par trois paires de gènes (un troisième allèle existe, comme nous le verrons sur l'un de ces loci).

Les couleurs *rose* et *rouge* sont contrôlées par le couple d'allèle R — *r* (rose dominant) ; rose foncé et rose clair sont dus à des gènes modificateurs P — *p* (foncé dominant). Les différentes combinaisons de ces gènes produisent des fleurs rose clair, rose foncé, rouge.

Génotypes	Rose foncé	PPRR, PPR*r*,	P*p*RR, P*p*R*r*.
	Rose clair	*pp*RR,	*pp*R*r*.
	Rouge	PP*rr*,	P*prr*, *pprr*.

Le caractère fleur blanche est contrôlé par un troisième couple, soit W — *w* ; c'est un caractère récessif.

Enfin, il existe un type possédant des fleurs bigarrées (*variegated*) chez lequel les fleurs sont rouges, roses et blanches. Ce caractère serait contrôlé par un allèle de *w* : soit w^v.

Mutations affectant les caractères du fruit

Forme du fruit. — Les variétés *Peento* (*Peen* = plat, *tao* = pêche), donnent des fruits aplatis (*saucer*) ; c'est un caractère monofactoriel dominant (LESLEY 1944). Symbole S — *s*.

Pubescence. — Le mutant « nectarine » donne des fruits glabres et petits ; ce caractère est récessif et monofactoriel. Symbole G — *g* (BLAKE, 1933; G. SANFOURCHE).

Coloration de la chair. — CONNORS établit que le caractère « chair jaune » est récessif et monofactoriel, Symbole Y — *y*. Ces résultats sont confirmés par BAILEY, BLAKE, BLAKE et CONNORS, WEINBERGER, G. SANFOURCHE.

LESLEY et MC CARTHY (1954) travaillant sur deux « lignées » relativement homozygotes (5e génération d'autofécondations) différentes par leurs gènes de coloration; font une analyse chromatographique des pigments caroténoïdes : « Le gène y induit la formation de α-carotène, de cryptoxanthine, d'isolutéine et de Zéaxanthine ; il augmente la teneur en β-carotène. Le gène *Y* induit la formation d'une faible quantité de β-carotène et au moins de deux autres pigments non identifiés. »

Adhérence de la chair au noyau. — Ce caractère est extrêmement fluctuant ; si l'on distingue facilement les types extrêmes : noyau libre avec espace libre entre la chair et le fruit (*air free*) et noyau adhérent (*cling*), il existe de nombreux types intermédiaires que l'on a du mal à situer dans l'une ou l'autre de ces catégories.

Nous retiendrons cependant les résultats de BAILEY et FRENCH (1949), qui suggèrent la dominance du caractère « noyau libre » avec déterminisme monofactoriel (Symbole F — *f*).

Texture de la chair. — On distingue tout d'abord les fruits fondants à maturité (*melting*) et les fruits non fondants (*nonmelting*). Cette distinction s'expliquerait par une différence de comportement de la paroi des cellules de la pulpe (ADDOMS, NIGHTINGALE et BLAKE, 1930).

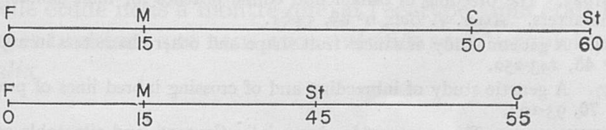
Chez le type fondant, comme *Elberta*, il y a en cours de maturation transformation rapide de la protopectine insoluble des parois cellulaires en pectine soluble; il en résulte un ramollissement et une diminution régulière de l'épaisseur des parois ; des cellules peuvent alors se briser, leur contenu qui se déverse ainsi dans les espaces intercellulaires donne un jus aqueux et abondant. Par contre, chez les types « non fondants » comme *Shipper Cling*, la protopectine est faiblement dissoute, les cellules restent intactes et, dans la chair des pêches les plus mûres, les espaces intercellulaires sont apparemment pleins d'air.

Le déterminisme héréditaire de ce caractère serait monofactoriel avec dominance du caractère fondant (CONNORS, BAILEY et FRENCH). Symbole M — *m*.

Ces mêmes auteurs signalent un linkage entre les gènes M*m* et F*f*, la distance des *loci* est variable selon les expériences ; celle qui paraît le plus vraisemblable serait de 15 unités de *Crossing-over* (BAILEY et FRENCH).

Ces résultats sont d'ailleurs discutables ; on ne retrouve pas, en effet, dans la F_2 le phénotype : noyau libre, chair non fondante, prévu théoriquement.

Fermeté de la chair. — On a voulu encore faire une subdivision dans le caractère « chair fondante ». On distingue ainsi la chair ferme fondante de la variété *J. H. Hale*, de la chair molle fondante de *Champion*



Les auteurs BAILEY et FRENCH, qui ont étudié ce caractère, proposent un déterminisme monofactoriel avec dominance du type à chair molle (*soft*) sur le type à chair ferme (*firm*) (Symbole ST — *st*). Ils établissent en outre l'existence d'un linkage de ce locus avec les loci portant F — *f* (adhérence au noyau) M — *m* (chair fondante ou non) et C — *c* (gène léthal d'albinisme).

L'existence de l'albinos léthal dans ce groupe de linkage fausse nettement les résultats, il en résulte des imprécisions quant à l'établissement de la carte factorielle. Deux solutions sont ainsi proposées ; nous les donnons ci-dessus.

CONCLUSION

Il faut souligner l'aspect pratique de ces études : tout ce qui pouvait être utile au sélectionneur a été analysé. Mais tout ce qui était utile au sélectionneur ne correspondait pas nécessairement à un schéma mendélien simple ; les caractères de texture de la chair du fruit sont trop mal définis pour que l'analyse qui en est faite soit indiscutable.

En ce qui concerne l'étude des liaisons entre gènes, le problème est négligé ou mal abordé ; nous sommes loin encore de l'établissement d'une carte factorielle chez le Pêcher.

Reçu pour publication en décembre 1964

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADDOMS R. M., NIGHTINGALE G. T., BLAKE M. A., 1930. Development and ripening peaches as correlated with physical characteristics, chemical composition, and histological structure of the fruit flesh : II. Histology and microchemistry. *N. J. agric. Exp. Sta. Bull.* 507.

BAILEY J. S. and FRENCH A. P., 1932. The inheritance of certain characters in the peach. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **29**, 127-130.

BAILEY J. S. and FRENCH A. P., 1942. The inheritance of blossom type and blossom size in the peach. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **40**, 248-250.

BAILEY J. S., and FRENCH A. P., 1949. The inheritance of certain fruit and foliage characters in the peach. *Mass. Agr. Exp. Sta. Bull.*, 452.

BLAKE M. A., 1933. The *J. H. Hale* as a parent in peach crosses. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **29**, 131-136.

BLAKE M . A., 1934. Additional facts in regard to the *J. H. Hale* peach as a parent in breeding work. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **30**, 124-128.

BLAKE M. A., 1938. Progress in peach breeding. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **35**, 49-53.

CONNORS C. H., 1925. Peach breeding — Technical phase. *N. J. Agric. Exp. Sta. Ann. Report.*, n° **46**, 88-91 (1926).

GREGORY C. T., 1918. The taxonomic value and structure of the peach leaf glands. *N. Y. Agr. Exp. Sta.*, Bull., n° **368**.

LAMMERTS W. E., 1945. The breeding of ornamental edible peaches for mild climates. I. Inheritance of tree and flower characters. *Amer. J. Bot.*, n° **32**, 53-61.

LESLEY J. W., 1944. A genetic study of saucer fruit shape and other characters in a peach. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **45**, 243-250.

LESLEY J. W., 1957. A genetic study of inbreeding and of crossing inbred lines of peaches. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **70**, 93-103.

LESLEY et MC CARTHY., 1954. *The* carotenoïds, Amygdalin Content, and titratable acidity of white and yellow fleshed Peaches within a nearly isogenic line. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, n° **64**, 289-292.

WATKIN WILLIAMS et BROWN A. G., 1956. Genetic response to selection in cultivated plants : gene frequencies in varieties of *Prunus persica*. *Proc. Royal Soc*, vol. **145**, 337-347.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, (1), 107.

RECTIFICATIF A LA « NOTE SUR TÉTRAPLOÏDIE DE QUELQUES POPULATIONS » DE *FESTUCA ARUNDINACEA* SCHERB

J. JADAS-HÉCART et M. GILLET

Dans la note que nous avons publiée aux pages 317-318 des Annales de l'Amélioration des Plantes, vol. 14 n°3, 1964, nous indiquions que des écotypes de *Festuca arundinacea* d'origines alpine et tunisienne étaient tétraploïdes ($4\ n = 28$), alors que l'espèce *Festuca arundinacea* est connue ponr être hexaploïde ($6\ n = 42$).

Depuis, d'autres travaux de cytologie indiquèrent que des individus appartenant à certains de ces écotypes avaient en réalité 42 chromosomes.

Une nouvelle étude nous a montré que, si l'écotype alpin était bien tétraploïde, ceux des écotypes tunisiens que nous avons vérifiés sont hexaploïdes. Parmi eux se trouve *Grombalia*.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ;— *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *sommaire :* résumé suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction,* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *résumé* destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très *complet* placé en tête de l'article. Les figures graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc. l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de : et *al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatres langues mentionnées) ; le titre du périodique en abrégé, selon la World List of Scientific Periodicals, ou le Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapître cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit.

Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur feuille séparée, et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5. *soit* × 0,25

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 16 × 24 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront deux épreuves à corriger. Les corrections « d'auteur » ne sont autorisées que sur le premier jeu d'épreuves.

Envoi du manuscrit : M. MAYER, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise) France. On demande deux exemplaires.

Le Directeur-Gérant : M. L. Cagnac

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 9-4-1965

Dépôt légal : 1[er] *trimestre 1965. N° d'impression : 1327.*

ANNALES
DE
L'AMÉLIORATION
DES
PLANTES

VOLUME 15 1965 NUMÉRO 2

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle - PARIS-7e

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs et de l'Institut national de la Recherche agronomique, à l'exception des sommaires et résumés.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (2), 111-157.

LES MÉCANISMES MOLÉCULAIRES DE LA MUTAGENÈSE ET LA NATURE DES MUTATIONS [1]

H. HESLOT

Laboratoire de Recherches de la chaire de Génétique,
Institut national agronomique, Paris

SOMMAIRE

Dans cette revue, l'auteur rappelle d'abord la nature et la structure du matériel héréditaire. Il examine ensuite les différents agents mutagènes et leur action sur l'ADN (analogues des purines et pyrimidines, acide nitreux, hydroxylamine, agents alkylants, acridines, ultra violet, radiations ionisantes). Les méthodes utilisées pour l'analyse expérimentale de la mutagenèse sont précisées (utilisation du système *r*II du bactériophage T_4) ainsi que les principaux résultats obtenus quant à la spécificité des agents mutagènes.

Les conséquences de la mutation au niveau des protéines sont étudiées en s'attachant tout spécialement au cas des acridines qui permettent de préciser la nature du code.

Depuis une dizaine d'années, des progrès considérables ont été faits dans nos connaissances relatives à la nature et à la structure du matériel héréditaire, ainsi qu'au mécanisme de la biosynthèse des protéines. S'appuyant sur ces résultats, les généticiens des bactériophages ont proposé des modèles qui expliquent à la fois l'origine des mutations et leurs conséquences au niveau enzymatique.

Le présent exposé tente de dégager les points essentiels de cette révolution dans le domaine biologique.

I. — NATURE DU MATÉRIEL GÉNÉTIQUE

Il est actuellement admis que l'acide désoxyribonucléique (ADN) est responsable de la transmission des caractères héréditaires. La première démonstration en fut donnée dès 1944 par Avery, Mac Leod et Mac Carthy (4) qui établirent qu'il était possible de transformer un type de pneumocoque en un autre sous l'influence d'un ADN très pur de poids moléculaire élevé extrait de ce dernier. Toute activité transformante disparaît lorsque cet ADN est préalablement dégradé par la désoxyribonucléase.

Une deuxième preuve résulte des expériences réalisées en 1952 par Hershey et Chase (64) avec les virus bactériens ou bactériophages. Ceux-ci ont une tête et une queue et affectent un peu la forme d'un têtard. Ils sont constitués essentiellement de protéines et d'ADN. Ce dernier est localisé dans la tête. En marquant de façon spécifique la protéine avec ^{35}S et l'ADN avec ^{32}P, on peut suivre le sort de ces deux constituants au cours de l'infection.

(1) Exposé introductif présenté lors du Congrès sur « l'Utilisation des Mutations induites en Phytogénétique ». — Rome, mai 1964.

L'étude au microscope électronique révèle que les bactériophages s'attachent par leur queue à la paroi des bactéries hôtes. Grâce au marquage avec ^{32}P et ^{35}S, on a pu montrer que seul l'ADN pénètre à l'intérieur de la bactérie, la paroi protéique restant à l'extérieur. On peut d'ailleurs la détacher par une agitation violente dans un mixeur. Après un certain temps, la période latente, les bactéries se lysent et libèrent plusieurs centaines de nouvelles particules de bactériophages. C'est donc l'ADN du bactériophage, le seul constituant ayant pénétré dans la bactérie, qui porte en lui l'information génétique pour la synthèse de nouvelles particules.

Dans certains cas, le matériel génétique est constitué, non par de l'ADN, mais par de l'acide ribonucléique (ARN). C'est le cas du virus causant la mosaïque du tabac (TMV). Ce virus se présente sous la forme de bâtonnets contenant 6 p. 100 d'ARN et 94 p. 100 de protéine. L'ARN constitue une chaîne spiralée occupant la partie centrale des bâtonnets. Tout autour se situe un fourreau d'unités protéiques. Par des méthodes chimiques suffisamment ménagées, il est possible d'isoler l'ARN ou la protéine à l'état pur. GIERER et SCHRAMM (54) ainsi que FRAENKEL-CONRAT et *al.* (44) ont montré que l'ARN pur possède un pouvoir infectieux, alors que la protéine pure en est totalement dépourvue.

Bien plus, FRAENKEL-CONRAT et WILLIAMS (43, 45) ont trouvé qu'on pouvait reconstituer des particules de virus complètes en mélangeant *in vitro* ARN et protéine : les unités protéiques viennent en effet se grouper d'elles-mêmes en spirale autour de la fibre d'ARN. FRAENKEL-CONRAT et SINGER (45) ont pu, dès lors, procéder à la synthèse expérimentale « d'hybrides ». Il existe en effet plusieurs souches de TMV qui sont distinguables par les lésions qu'elles causent en infectant une feuille de tabac. Considérons deux souches A et B et séparons, dans chaque cas, ARN et protéine. Reconstituons *in vitro*, les virus hybrides suivants :

$$\begin{cases} \text{ARN (A)} + \text{Protéine (B)} \\ \text{ARN (B)} + \text{Protéine (A)} \end{cases}$$

Si l'on infecte une plante de tabac avec ces virus synthétiques, on constate que les symptômes produits sont caractéristiques de l'ARN et non de la protéine. Les virus de la descendance possèdent d'ailleurs une protéine identique à celle du virus initial d'où l'ARN avait été extrait. Il est donc clair que l'ARN d'une souche contient l'information génétique pour la synthèse de sa protéine spécifique.

II. — CONSTITUTION, STRUCTURE ET RÉPLICATION DE L'ADN

L'ADN est un polymère constitué d'une longue chaîne de nucléotides reliés les uns aux autres par des molécules de phosphate (liaisons 3'-5' entre molécules successives de désoxyribose). Ces liaisons 3'-5'-3'-5' introduisent évidemment une polarité.

L'ADN contient en général deux bases puriques (Adénine et Guanine) et deux bases pyrimidiques (Thymine et Cytosine) et l'on observe, à l'analyse, les relations quantitatives suivantes :

$$\begin{cases} A + G = T + C & \text{autant de bases puriques que de bases pyrimidiques} \\ A = T & \text{autant d'Adénine que de Thymine} \\ G = C & \text{autant de Guanine que de Cytosine} \end{cases}$$

Par contre, le rapport $R = A + T/G + C$ varie suivant l'origine de l'ADN, mais demeure constant pour une espèce déterminée (valeurs extrêmes de R : 0,35 à 2,7).

La structure de l'ADN a été élucidée par la méthode de diffraction des rayons X, utilisée par WILKINS et RANDALL (139), WILKINS, STOKES et WILSON (140), FRANKLIN et GOSLING (46). Réunissant tous ces résultats en une brillante synthèse, WATSON et CRICK (135) proposèrent un modèle (fig. 1) dont la réalité est aujourd'hui bien établie. L'ADN comporte deux chaînes enroulées l'une autour de l'autre pour former une double hélice. Ces deux chaînes ont des polarités opposées (liaisons $3' \rightarrow 5'$ pour l'une, $5' \rightarrow 3'$ pour l'autre), La molécule a l'aspect d'un escalier en spirale dont les marches sont constituées par les bases et la rampe par les phosphates et le désoxyribose. Au niveau de chaque marche, se trouvent deux bases, une purine, et une pyrimidine, qui sont liées l'une à l'autre par des liaisons hydrogène. Il y a toujours liaison entre :

Adénine et Thymine d'une part
Guanine et Cytosine d'autre part

En raison de ces appariements spécifiques des bases, il est clair que la séquence des bases d'une chaîne détermine celle de l'autre chaîne. Les plans des bases sont à peu près perpendiculaires à l'axe de l'hélice et les paires de bases successives sont séparées par une distance de 3,4 Å. Si l'on considère une chaîne particulière, il n'existe aucune restriction de principe à la séquence des bases.

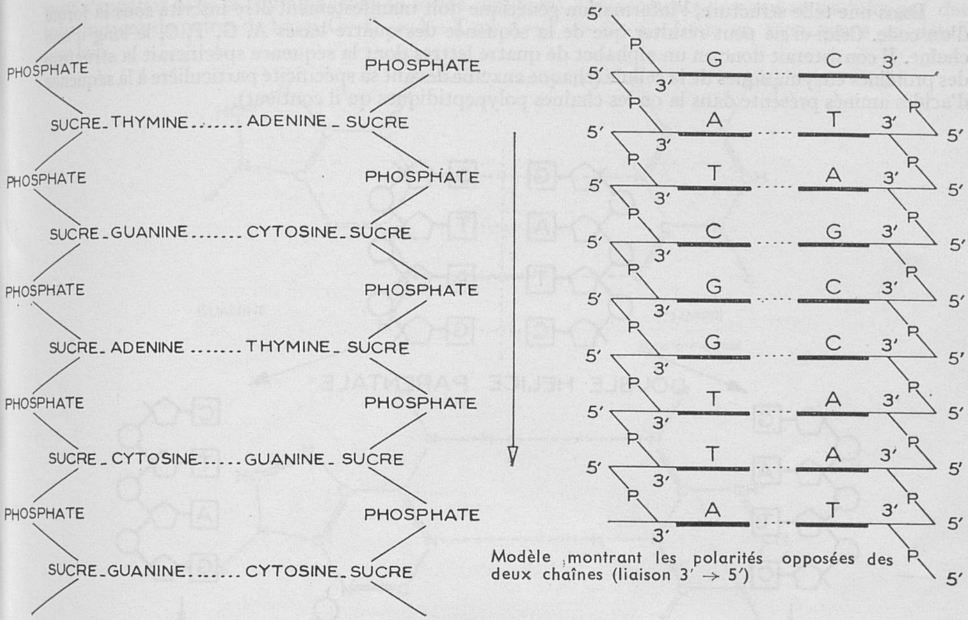


FIG. 1 *a.* — *Modèles de la double hélice d'ADN*

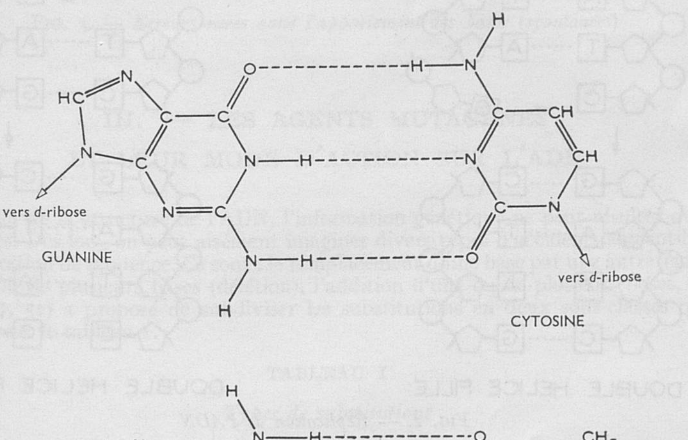


FIG. 1 *b.* — *Appariement des bases dans l'ADN*

Dans une telle structure, l'information génétique doit manifestement être inscrite sous la forme d'un code. Celui-ci ne peut résulter que de la séquence des quatre bases A, G, T, C, le long d'une chaîne. Il consisterait donc en un alphabet de quatre lettres dont la séquence spécifierait la structure des protéines enzymatiques de la cellule (chaque enzyme devant sa spécificité particulière à la séquence d'acides aminés présente dans la ou les chaînes polypeptidiques qu'il contient).

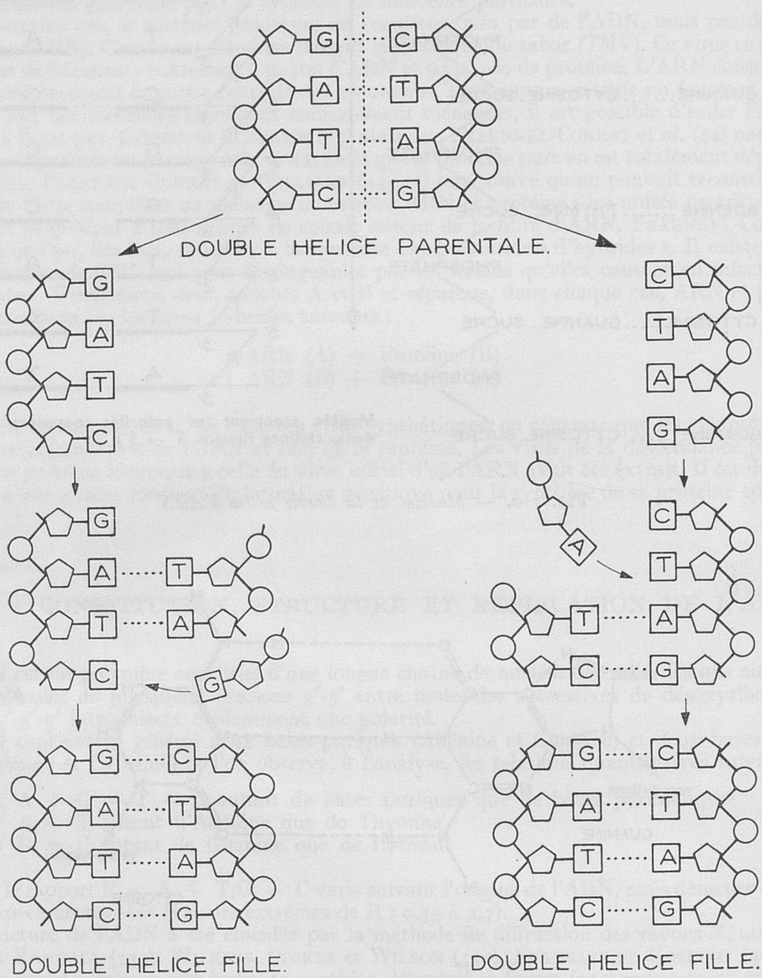


FIG. 2. — *Réplication de l'ADN*

WATSON et CRICK (136) ont proposé que la spirale double d'ADN se reproduisait par séparation des deux filaments qui la constituent et la formation de deux nouvelles chaînes complémentaires des anciennes, les nouvelles bases se mettant en place conformément aux règles d'appariement que nous avons mentionnées : A ··· T, G ··· C (fig. 2). Cette hypothèse peut être considérée comme prouvée car elle a reçu de nombreuses confirmations expérimentales sur lesquelles il nous est impossible d'insister ici : étude de MESELSON et STAHL (96, 97) sur la centrifugation de l'ADN en gradient de densité, recherches de TAYLOR (123, 124) sur l'autoradiographie des chromosomes, recherches de JOSSE et *al.* (74) sur la synthèse enzymatique de l'ADN *in vitro*.

WATSON et CRICK (136) ont mentionné la possibilité d'erreurs survenant au cours de la réplication de l'ADN et conduisant à des mutations (fig. 3). C'est ainsi que l'adénine est susceptible de s'apparier avec la cytosine (lorsque celle-ci est présente sous sa forme rare imino) et que la guanine

peut s'apparier avec la thymine (sous sa forme rare énol). Ces accidents peuvent se traduire par des substitutions de paires de bases G—C → A—T ou A—T → G—C. Nous en reparlerons en détail plus loin.

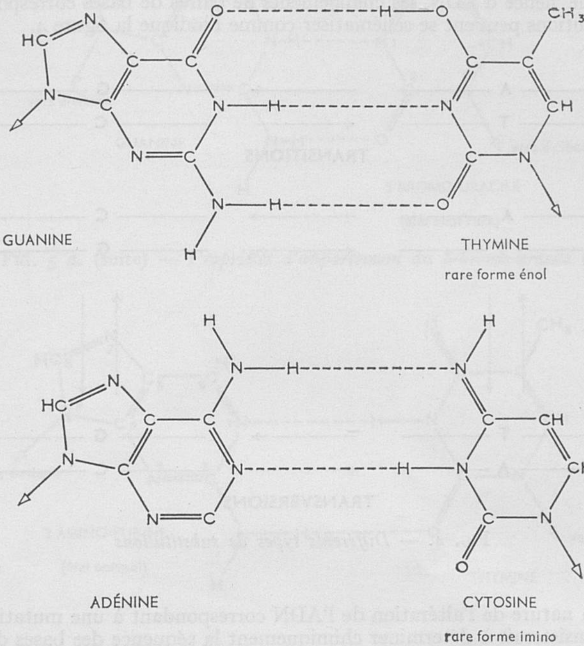


FIG. 3. — *Erreurs rares aans l'appariement des bases (spontanées)*

III. — LES AGENTS MUTAGÈNES ET LEUR MODE D'ACTION SUR L'ADN

Compte tenu de la structure de l'ADN, l'information génétique ne peut résulter que de la séquence des bases. Dès lors, on peut aisément imaginer divers types d'accidents susceptibles de conduire à une altération de séquence. Ce sont : le remplacement d'une base par une autre (substitution), la perte d'une ou de plusieurs bases (délétion), l'addition d'une ou de plusieurs bases, l'inversion.

FREESE (47, 52) a proposé de subdiviser les substitutions en deux sous-classes qu'il définit comme indiqué sur le tableau 1.

TABLEAU I

Types de substitutions

Base initiale	Base finale	Nom de la substitution
Purine	autre purine	Transition
Pyrimidine	autre pyrimidine	Transition
Purine	Pyrimidine quelconque	Transversion
Pyrimidine	Purine quelconqne	Transversion

La transition qualifie donc le remplacement d'une purine par une autre purine ou d'une pyrimidine par une autre pyrimidine dans une fibre unique d'ADN. La transversion qualifie le remplacement d'une purine par une pyrimidine ou d'une pyrimidine par une purine.

Pour une double hélice d'ADN, les changements de paires de bases correspondant à ces deux catégories de substitutions peuvent se schématiser comme l'indique la figure 4.

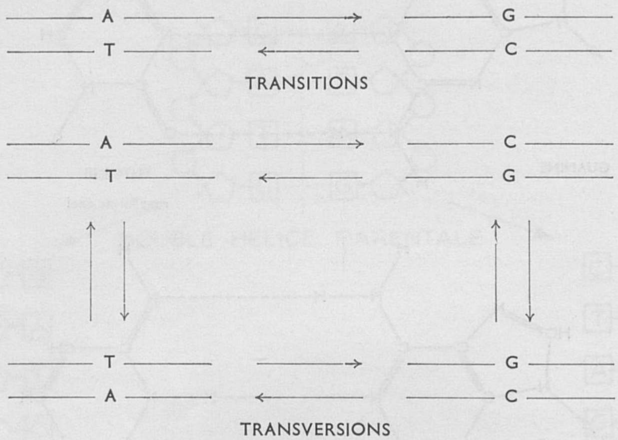


FIG. 4. — *Différents types de substitutions*

Pour préciser la nature de l'altération de l'ADN correspondant à une mutation, la méthode la plus satisfaisante consisterait à déterminer chimiquement la séquence des bases dans l'ADN initial et dans celui du mutant. Un tel travail est, pour l'instant, impossible. On est donc contraint d'avoir recours à des méthodes indirectes en utilisant, en particulier, des agents mutagènes chimiques que l'on sait interférer de façon spécifique avec les purines et pyrimidines de l'ADN.

A. *Analogues des bases puriques et pyrimidiques*

Il s'agit de substances étroitement apparentées à A, G, C ou T et qu'on peut espérer, pour cette raison, être incorporées dans l'ADN sans empêcher sa réplication. Toutefois, comme l'analogue diffère de la base normale par certains substituants, sa structure électronique est modifiée et on peut s'attendre à des erreurs occasionnelles dans sa spécificité d'appariement par liaisons hydrogène, au sein de la double hélice. Les analogues les plus souvent utilisés sont le 5-Bromo uracile (BU) et la 5-Bromo désoxy-uridine (BU*d*R) qui sont des analogues de la thymine (le groupe méthyle en position 5 est

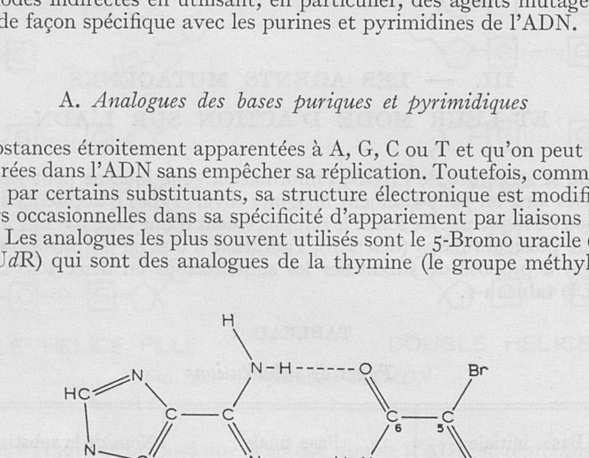


FIG. 5.

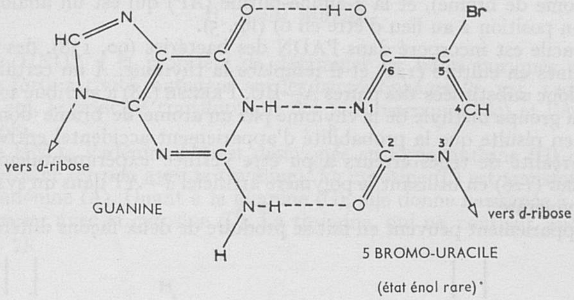


FIG. 5 *a.* (suite) — *Propriétés d'appariement du 5-bromo-uracile (BU)*

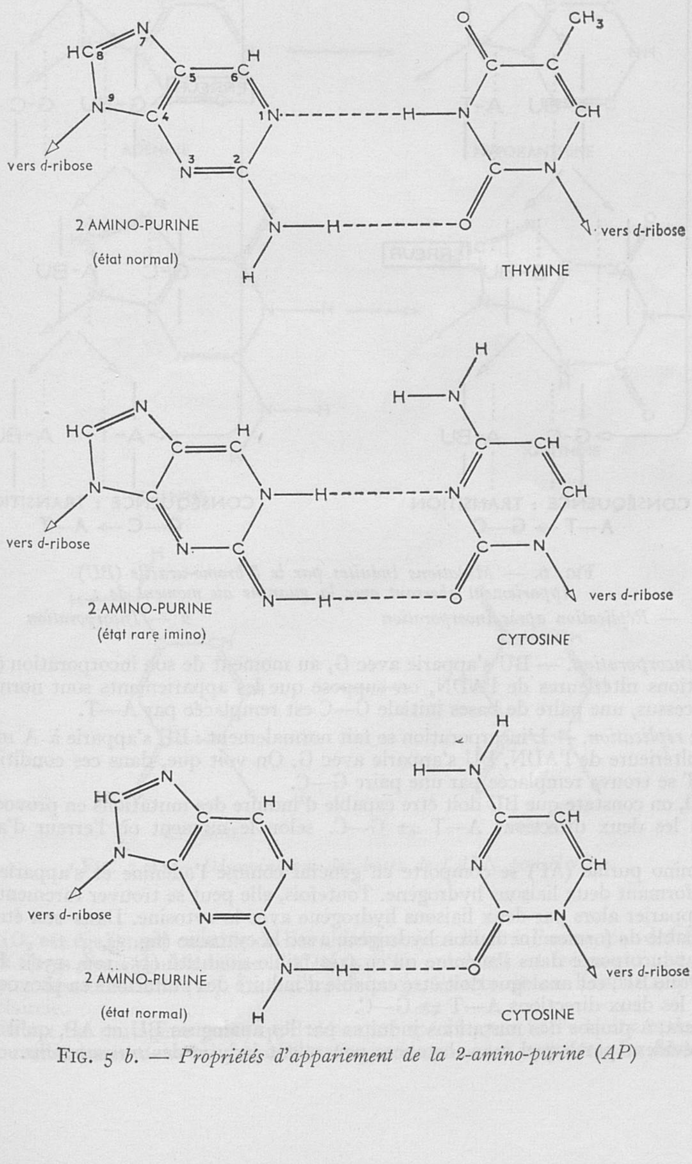


FIG. 5 *b.* — *Propriétés d'appariement de la 2-amino-purine (AP)*

remplacé par un atome de brome), et la 2-amino-purine (AP) qui est un analogue de l'adénine (le groupe $—NH_2$ est en position 2 au lieu d'être en 6) (fig. 5).

Le 5-Bromo uracile est incorporé dans l'ADN des bactéries (90, 138), des bactériophages (39) et de cellules humaines en culture (122) et il remplace la thymine. A un certain nombre de paires A—T se trouvent donc substituées des paires A—BU. FREESE (48) a attribué son activité mutagène au remplacement du groupe méthyle de la thymine par un atome de brome dont l'électronégativité est plus grande ; il en résulte que la probabilité d'appariement accidentel entre BU et G se trouve accrue (fig. 5). La réalité de telles erreurs a pu être vérifiée expérimentalement par TRAUTNER SWARTZ et KORNBERG (126) en utilisant le polymère artificiel *d*—AT dans un système *in vitro* en présence de l'ADN-polymérase.

Les erreurs d'appariement peuvent en fait se produire de deux façons différentes (fig. 6) :

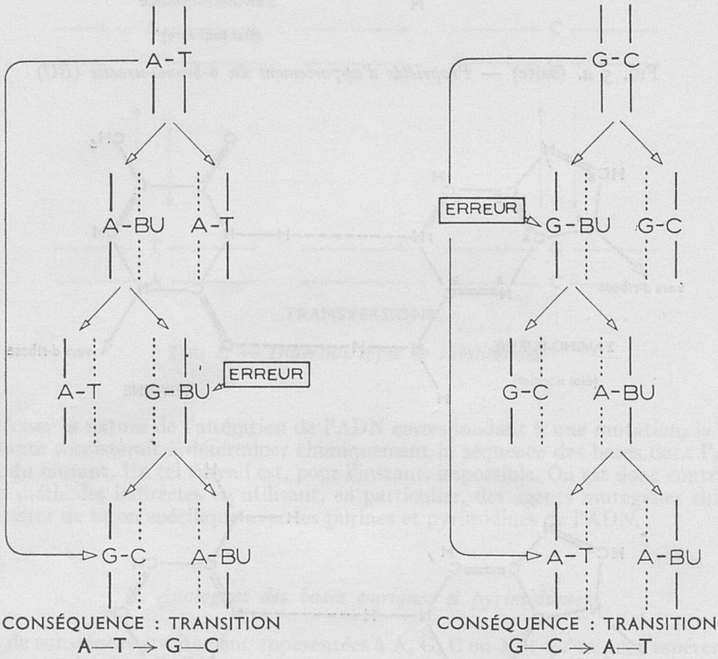


FIG. 6. — *Mutations induites par le 5-bromo-uracile (BU)*
Appariement aberrant avec la guanine au moment de :
1 — *Réplication après incorporation* 2 — *Incorporation*

a) *Erreur d'incorporation.* — BU s'apparie avec G, au moment de son incorporation (paire G—BU). Aux réplications ultérieures de l'ADN, on suppose que les appariements sont normaux (A—BU). Dans ce processus, une paire de bases initiale G—C est remplacée par A—T.

b) *Erreur de réplication.* — L'incorporation se fait normalement : BU s'apparie à A mais, lors d'une réplication ultérieure de l'ADN, BU s'apparie avec G. On voit que, dans ces conditions, une paire initiale A—T se trouve remplacée par une paire G—C.

Au total, on constate que BU doit être capable d'induire des mutations en provoquant des transitions dans les deux directions A—T ⇄ G—C. selon le moment où l'erreur d'appariement se produit.

La 2-amino purine (AP) se comporte en général comme l'adénine et s'apparie donc avec la thymine en formant deux liaisons hydrogène. Toutefois, elle peut se trouver rarement sous sa forme imino et s'apparier alors par deux liaisons hydrogène avec la cytosine. Dans son état normal, AP est aussi capable de former une liaison hydrogène avec la cytosine (fig. 5).

AP n'est incorporée dans l'adénine qu'en très faible quantité (55, 106, 131). Par les mêmes mécanismes que BU, cet analogue doit être capable d'induire des mutations en provoquant des transitions dans les deux directions A—T ⇄ G—C.

On notera, à propos des mutations induites par les analogues BU et AP, qu'il n'existe aucun mécanisme évident par lequel ces substances pourraient induire des *transversions*.

B. *Acide nitreux*

L'acide nitreux (HNO_2) a la propriété de désaminer les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN. Il a une très forte activité mutagène sur les bactériophages (7, 125, 129), les bactéries (75, 76), les levures (56, 70), le principe transformant des pneumocoques (89) et l'ARN du virus de la mosaïque du tabac (98).

Sous l'action de HNO_2, l'adénine (A) est désaminée en hypoxanthine (H) qui s'apparie spécifiquement avec la cytosine (et non avec la thymine). La cytosine (C) est transformée en uracile (U) qui s'apparie avec l'adénine (A). Quant à la guanine (G), elle donne naissance à de la xanthine (X) qui continue à s'apparier avec la cytosine (C). La thymine, qui ne contient aucun groupe $—NH_2$, n'est pas altérée (fig. 7).

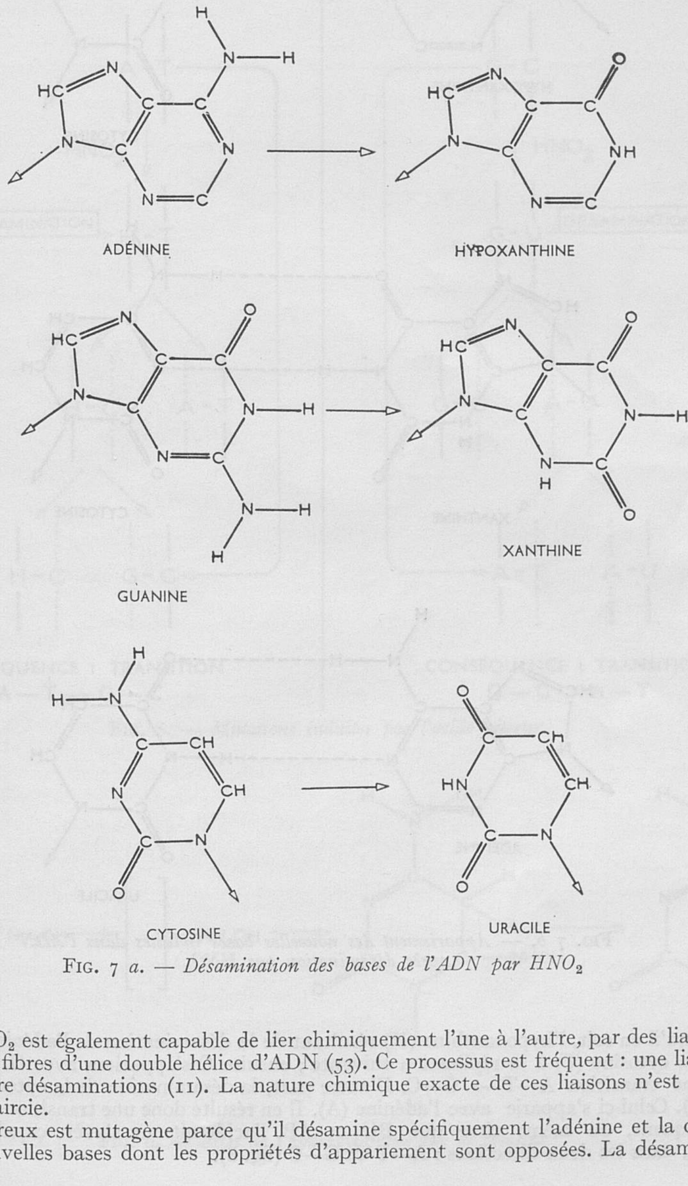


FIG. 7 *a*. — *Désamination des bases de l'ADN par* HNO_2

Enfin, HNO_2 est également capable de lier chimiquement l'une à l'autre, par des liaisons covalentes, les deux fibres d'une double hélice d'ADN (53). Ce processus est fréquent : une liaison de ce type pour quatre désaminations (11). La nature chimique exacte de ces liaisons n'est pas encore entièrement éclaircie.

L'acide nitreux est mutagène parce qu'il désamine spécifiquement l'adénine et la cytosine en donnant de nouvelles bases dont les propriétés d'appariement sont opposées. La désamination de

la guanine en xanthine ne serait pas mutagène mais VIELMETTER et SCHUSTER (129) considèrent que cet événement est létal. Néanmoins, cette conclusion ne semble guère convaincante.

Par contre, il est probable que les ponts entre filaments d'une double hélice constituent des points d'arrêt pour la polymérase et peuvent être, de ce fait, considérés comme des événements étaux.

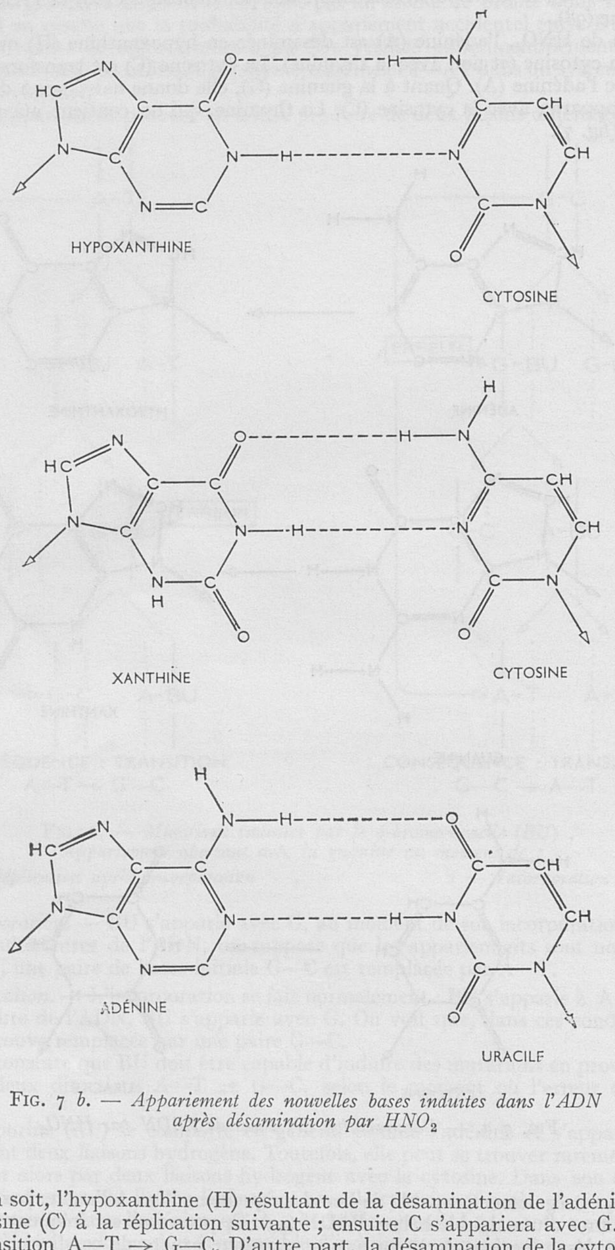


FIG. 7 *b*. — *Appariement des nouvelles bases induites dans l'ADN après désamination par* HNO_2

Quoi qu'il en soit, l'hypoxanthine (H) résultant de la désamination de l'adénine (A) va s'apparier avec la cytosine (C) à la réplication suivante ; ensuite C s'appariera avec G. La conséquence en est une transition A—T → G—C. D'autre part, la désamination de la cytosine (C) donne de l'uracile(U). Celui-ci s'apparie avec l'adénine (A). Il en résulte donc une transition : G—C → A—T. Par conséquent, au même titre que BU et AP, l'acide nitreux s'avère capable d'induire des transitions, dans les deux directions : A—T ⇄ G—C (fig. 8).

C. *Hydroxylamine*

Ce composé (HA) réagit de façon spécifique avec certaines pyrimidines, en particulier la cytosine et l'uracile (26). La réaction avec la thymine est faible. Dans l'ADN, il semble établi que l'action principale se situe au niveau de la cytosine. Celle-ci est transformée en un dérivé hydroxyamino (IV), faisant suite à une série de composés intermédiaires instables (II, III). La base IV semble pouvoir s'apparier spécifiquement avec l'adénine. Il en résulte (50, 51) que l'hydroxylamine doit induire surtout des transitions G—C → A—T mais dans une direction unique (fig. 9).

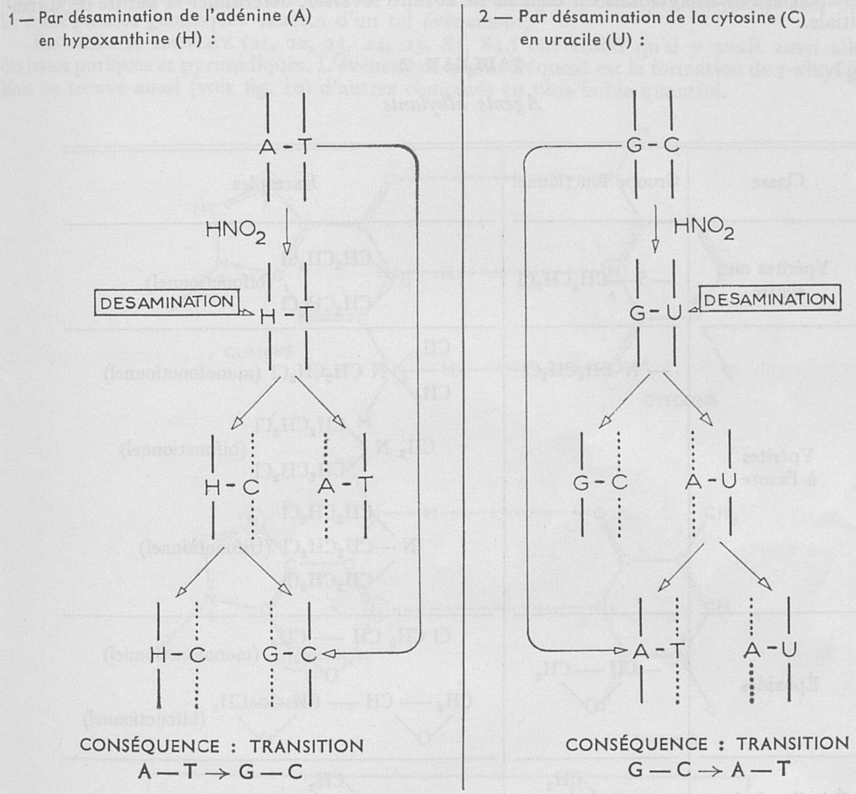


FIG. 8. — *Mutations induites par l'acide nitreux*

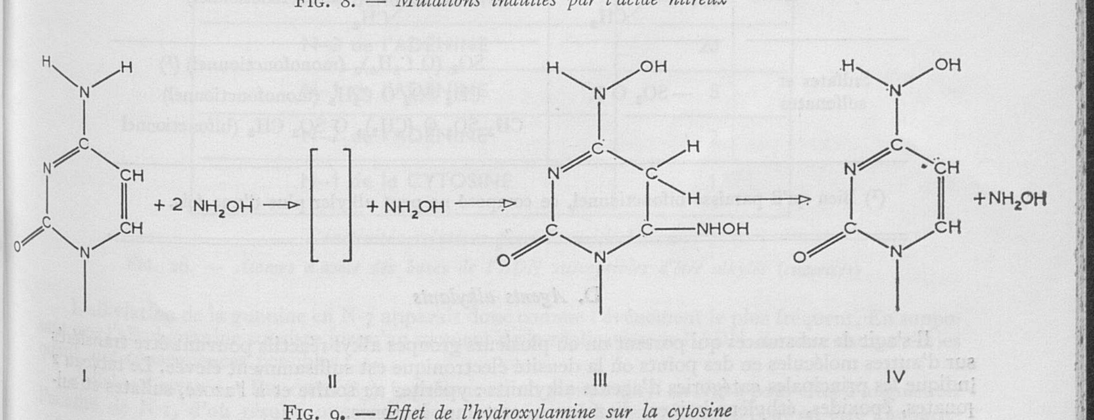


FIG. 9. — *Effet de l'hydroxylamine sur la cytosine*

Si ces conclusions sont exactes, on peut s'attendre à ce que les mutations induites par HA ne puissent être réversées par un deuxième traitement par ce même agent. En effet, la mutation résultant d'une transition G—C → A—T ne pourrait être réversée que par une transition dans le sens opposé A—T → G—C, ce qui, nous l'avons vu, paraît impossible.

D'autre part, nous savons que les analogues BU et AP et l'acide nitreux sont, au contraire, capables d'induire des mutations, en provoquant des transitions dans les deux directions A—T ⇄ G—C. En conséquence, en traitant avec l'hydroxylamine des mutants induits par ces agents, on ne devrait trouver de réversions que dans les cas où la transition initiale était A—T → G—C. En conséquence, si l'on a la certitude qu'une mutation déterminée résulte d'une transition on peut, en recherchant si l'hydroxylamine est capable de la faire réverser, déterminer la nature de la transition initiale.

TABLEAU 2

Agents alkylants

Classe	Groupe fonctionnel	Exemples
Ypérites au soufre	$—S—CH_2CH_2Cl$	$S<^{CH_2CH_2Cl}_{CH_2CH_2Cl}$ (bifonctionnel)
Ypérites à l'azote	$—N\ CH_2CH_2Cl$	$^{CH_3}_{CH_3}>N\ CH_2CH_2Cl$ (monofonctionnel) $CH_3\ N<^{CH_2CH_2Cl}_{CH_2CH_2Cl}$ (bifonctionnel) $N(CH_2CH_2Cl)_3$: $N—CH_2CH_2Cl$, $—CH_2CH_2Cl$, $—CH_2CH_2Cl$ (trifonctionnel)
Époxides	$—CH—CH_2$ (pont O)	$Cl\ CH_2\ CH—CH_2$ (pont O) (monofonctionnel) $CH_2—CH—CH—CH_2$ (deux ponts O) (bifonctionnel)
Éthylène-imines	$—N<^{CH_2}_{CH_2}$ (cycle)	$H\ N<^{CH_2}_{CH_2}$ (cycle) (monofonctionnel)
Sulfates et sulfonates	$—SO_2\ O\ R$	$SO_2\ (O\ C_2H_5)_2$ (monofonctionnel) (1) $CH_3\ SO_2\ O\ C_2H_5$ (monofonctionnel) $CH_3\ SO_2\ O\ (CH_2)_4\ O\ SO_2\ CH_3$ (bifonctionnel

(1) Bien qu'il paraisse bifonctionnel, ce composé ne peut alkyler plus d'une fois.

D. *Agents alkylants*

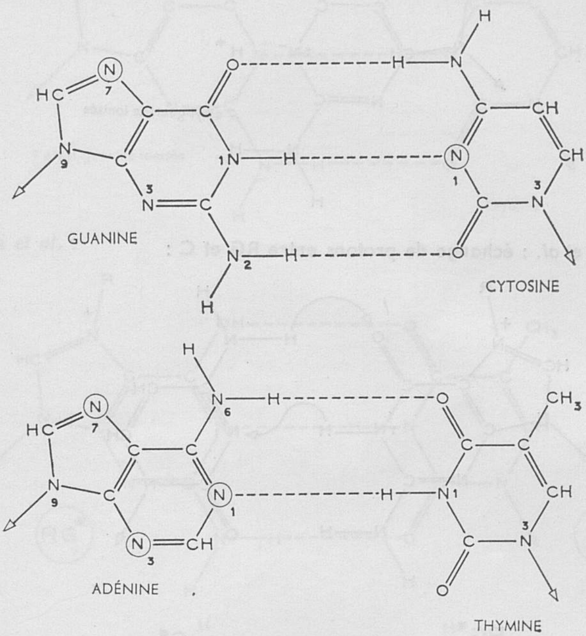
Il s'agit de substances qui portent un ou plusieurs groupes alkyl réactifs pouvant être transférés sur d'autres molécules en des points où la densité électronique est suffisamment élevée. Le tableau 2 indique les principales catégories d'agents alkylants : ypérites au soufre et à l'azote, sulfates et sulfonates, époxides, éthylène-imines, diazoïques, certaines lactones.

La réactivité de ces substances a été étudiée par PRICE (101) et ROSS (103, 104) et les rapports entre la structure moléculaire, la réactivité et l'activité mutagène ont été examinées par HESLOT (70)

Du point de vue de l'induction de mutations, ce sont les agents méthylants et éthylants qui ont été les plus étudiés, à savoir : le sulfate de diméthyle, le sulfate de diéthyle, le méthane sulfonate de méthyle et le méthane sulfonate d'éthyle (67, 68, 69, 70, 91, 92).

Toutes ces substances réagissent sur l'ADN en alkylant les groupes phosphate comme cela a été prouvé par ALEXANDER (1), REINER et ZAMENHOF (102), STACEY et *al.* (120), ALEXANDER et STACEY (2). Les triesters ainsi formés sont instables et ont tendance à libérer le groupe alkyl. On ignore si ces groupes alkyl sont susceptibles d'interférer avec la réplication de l'ADN. Parfois, l'alkylation d'un groupe phosphate peut entraîner la rupture de la liaison désoxyribose-phosphate. On ignore les conséquences génétiques exactes d'un tel événement.

BROOKES et LAWLEY (21, 22, 23, 24, 25, 83, 84,) ont établi qu'il y avait aussi alkylation des bases puriques et pyrimidiques. L'événement le plus fréquent est la formation de 7-alkyl guanine. Mais on trouve aussi (voir fig. 10) d'autres composés en plus faible quantité.



N–7 de la GUANINE	100
N–3 de l'ADÉNINE	20
N–1 de l'ADÉNINE	5
N–7 de l'ADÉNINE	2
N–1 de la CYTOSINE	1

Réactivités relatives pour la méthylation

FIG. 10. — *Atomes d'azote des bases de l'ADN susceptibles d'être alkylés (encerclés)*

L'alkylation de la guanine en N-7 apparaît donc comme l'événement le plus fréquent. En supposant que l'alkyl guanine subsiste jusqu'au moment de la réplication de l'ADN, il existe deux théories quant aux conséquences possibles :

a) Selon LAWLEY et BROOKES (83), la présence d'un groupe alkyl en N-7 a pour effet d'augmenter l'acidité de N-1, d'où résulte une ionisation de cet azote. La conséquence peut en être l'apparie-

ment anormal occasionnel de la 7-alkyl guanine avec la thymine (fig. 11 et 12). Ceci se traduira donc par une transition G—C → A—T (fig. 13).

b) Selon NAGATA et *al.* (99) l'alkylation de la guanine en N-7 provoque un transfert du proton en N-1 sur l'azote correspondant (N-1) de la cytosine. Inversement, le groupe NH_2 de la cytosine perd un proton au profit du groupe C=O de la guanine (fig. 11 et 12). On obtient donc deux nouvelles bases RG* et C* qui sont susceptibles de s'apparier de la façon suivante :

RG*—T et A—C*

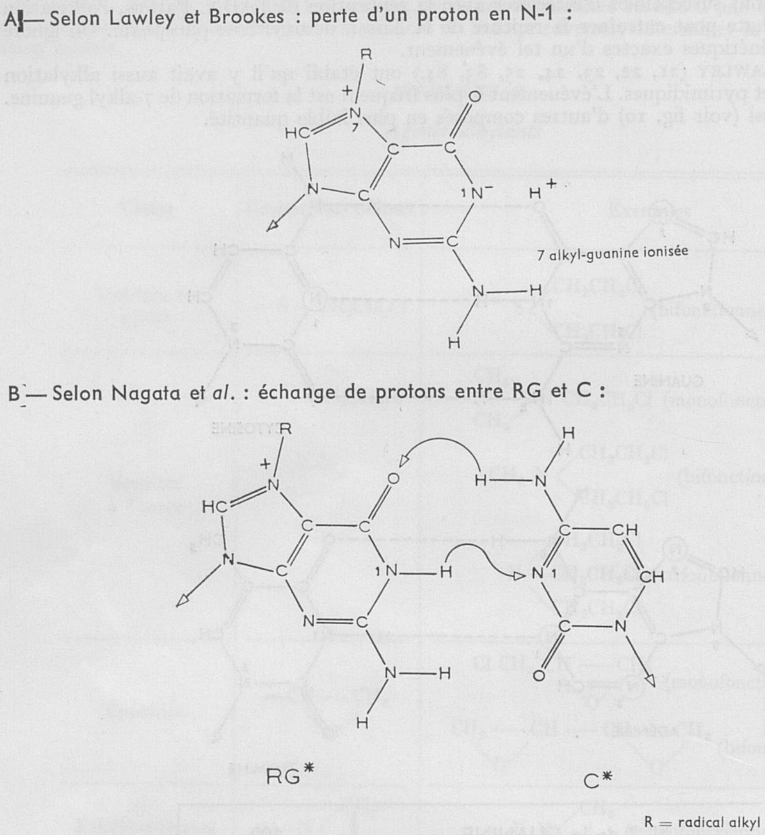


FIG. 11. — *Conséquences de l'alkylation de la guanine en N-7*

Dès lors, après deux réplications, deux molécules d'ADN sur quatre auraient subi une transition G—G → A—T (fig. 14). Ce deuxième mécanisme présuppose que les nouvelles bases RG* et C* ont, après séparation, une durée de vie suffisante pour pouvoir s'apparier effectivement comme indiqué. Il n'existe pas pour l'instant de preuve qu'il en est bien ainsi.

D'autre part, on sait que la guanine alkylée au sein de l'ADN est libérée lentement par hydrolyse de la liaison glycosidique (23, 82, 84, 88). On ignore quelles sont les conséquences exactes de cet événement au moment où l'ADN se réplique, mais on peut en envisager deux : (fig. 15).

— perte d'une paire de bases (délétion) ;

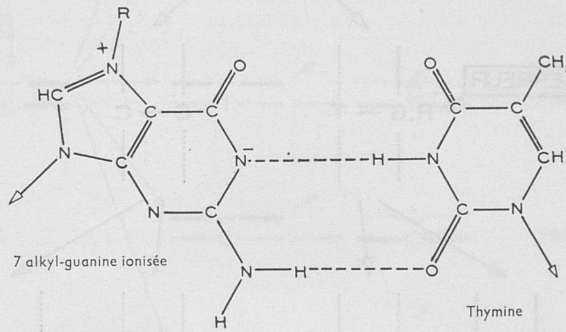
— remplacement de la base manquante par une base quelconque, purine ou pyrimidine, conduisant soit à une transition, soit à une transversion, soit à une restauration de l'état initial.

En fait, le problème n'est pas résolu. Cependant KRIEG (79) a conclu, d'une étude de réversions induites par le méthane sulfonate d'éthyle chez des mutants r_{II} du bactériophage T_4 qu'il s'agissait, de transitions G—C → A—T. Si tel est le cas, la perte d'une base serait un processus létal. Au surplus on sait que, dans un ADN dépuriné de ce type, l'épine dorsale —sucre— phosphate— est fragile et a tendance à se briser (82, 88). Cette rupture des fibres d'ADN explique sans doute les observations de LOVELESS et STOCK (93) sur l'inactivation des bactériophages par des agents alkylants

monofonctionnels : l'inactivation augmente en fonction du temps quand on laisse les bactériophages en suspension après avoir éliminé l'agent alkylant.

En ce qui concerne l'alkylation de l'adénine en N-3, on sait qu'elle est cinq fois moins fréquente que l'attaque de la guanine en N-7. Cependant, Brookes et Lawley (23, 84) ont trouvé que les alkyl-adénines sont éliminées de l'ADN (par hydrolyse de la liaison glycosidique) six fois plus rapidement que les alkyl-guanines. Par ailleurs, il ne semble pas que les alkyl-adénines aient une altération de leurs capacités d'appariement par liaisons hydrogène.

A — Selon Lawley et Brookes :



B — Selon Nagata et *al.* :

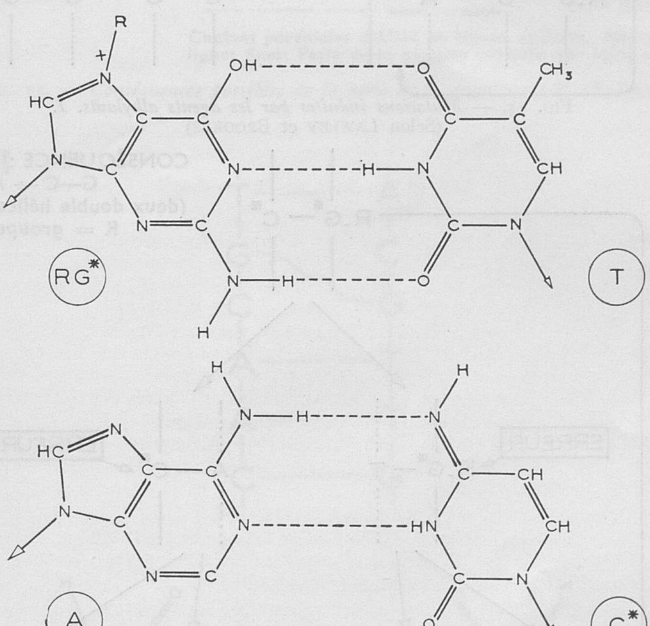


Fig. 12. — *Propriétés d'appariement des nouvelles bases résultant de l'alkylation de la Guanine en N-7*

Quant aux agents alkylants bifonctionnels, ils s'avèrent plus toxiques que les substances monofonctionnelles. Indépendamment des réactions déjà décrites, des corps comme l'ypérite au soufre $S(CH_2CH_2Cl)_2$ ou le myleran $CH_3SO_2O(CH_2)_4O\ SO_2CH_3$ sont capables de provoquer des pontages entre les deux chaînes de la double hélice. Brookes et Lawley ont ainsi isolé des dérivés *bis*-guanyl (fig. 16). Une telle liaison covalente, empêchant la séparation des deux chaînes de la double hélice, est probablement létale.

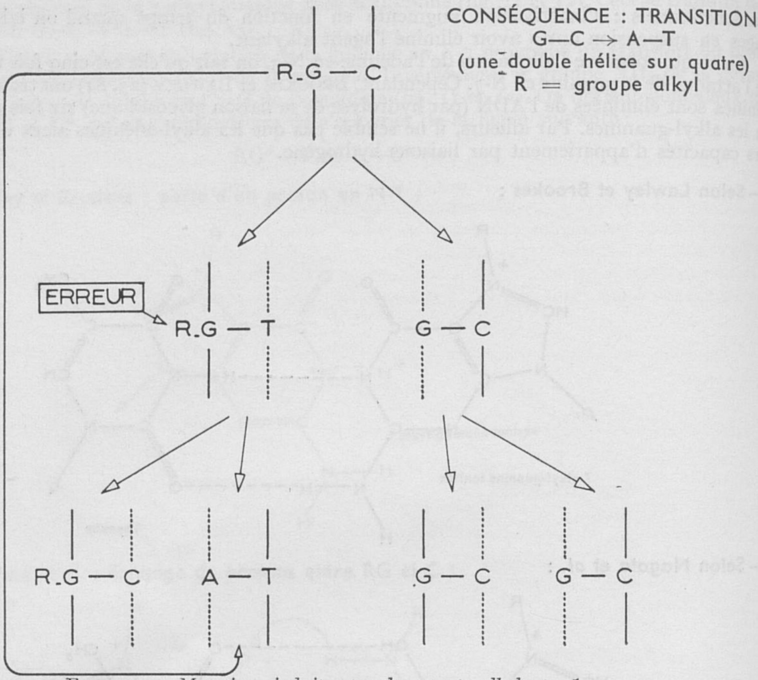


FIG. 13. — *Mutations induites par les agents alkylants. 1.*
(Selon LAWLEY et BROOKES)

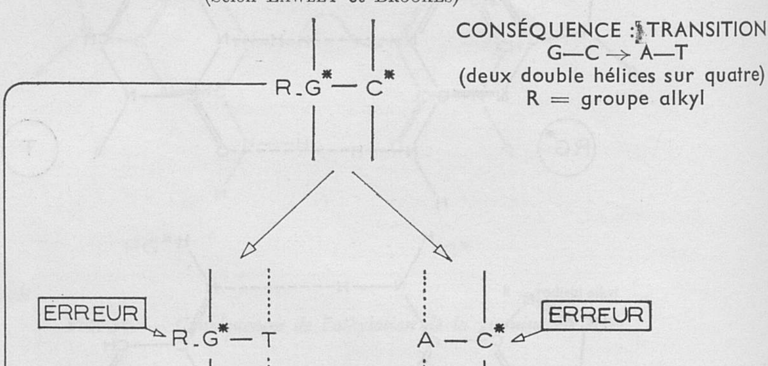
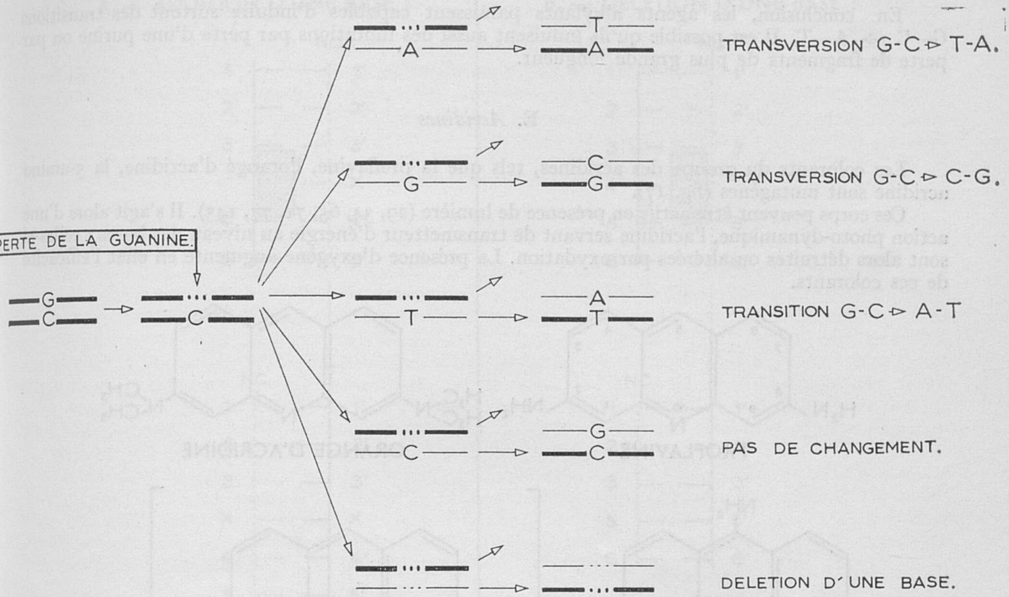
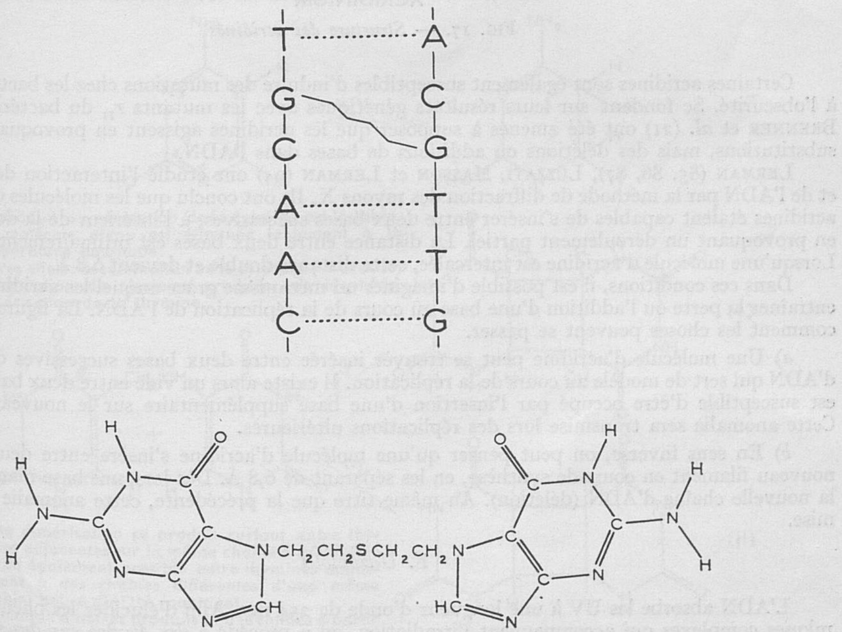


FIG. 14. — *Mutations induites par les agents alkylants. 2.*
(Selon NAGATA et *al.*)



Chaînes parentales d'ADN en lignes épaisses. Nouvelles chaînes d'ADN en lignes fines. Perte de la guanine indiquée par ligne pointillée

FIG. 15. — *Conséquences possibles de la perte de la guanine après alkylation*



Dérivé diguanyl, produit de la réaction avec l'ypérite bifonctionnel $S(CH_2CH_2Cl)_2$

FIG. 16. — *Pontage entre les deux chaînes d'une double hélice d'ADN par un agent bifonctionnel*

En conclusion, les agents alkylants paraissent capables d'induire surtout des transitions G—C → A—T. Il est possible qu'ils induisent aussi des mutations par perte d'une purine ou par perte de fragments de plus grande longueur.

E. *Acridines*

Les colorants du groupe des acridines, tels que la proflavine, l'orangé d'acridine, la 5-amino acridine sont mutagènes (fig. 17).

Ces corps peuvent être actifs en présence de lumière (29, 34, 65, 71, 77, 145). Il s'agit alors d'une action photo-dynamique, l'acridine servant de transmetteur d'énergie au niveau des bases : celles-ci sont alors détruites ou altérées par oxydation. La présence d'oxygène augmente en effet l'efficacité de ces colorants.

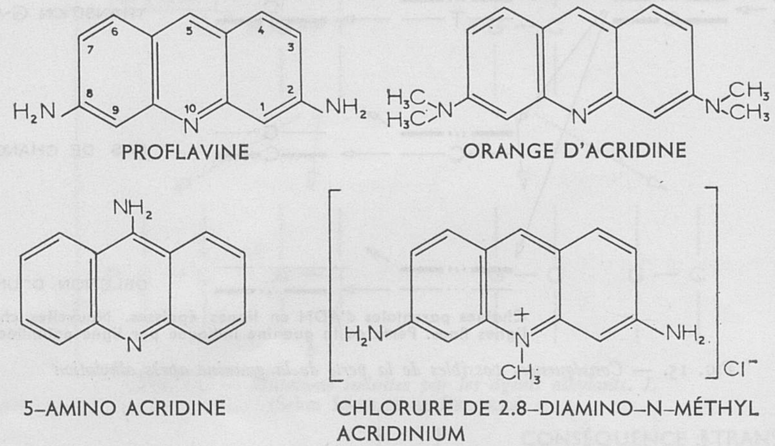


FIG. 17. — *Structure des acridines*

Certaines acridines sont également susceptibles d'induire des mutations chez les bactériophages, à l'obscurité. Se fondant sur leurs résultats génétiques avec les mutants r_{II} du bactériophage T_4, BRENNER et *al.* (21) ont été amenés à supposer que les acridines agissent en provoquant non des substitutions, mais des délétions ou additions de bases dans l'ADN.

LERMAN (85, 86, 87), LUZZATI, MASSON et LERMAN (94) ont étudié l'interaction des acridines et de l'ADN par la méthode de diffraction des rayons X. Ils ont conclu que les molécules de certaines acridines étaient capables de s'insérer entre deux bases successives, à l'intérieur de la double hélice en provoquant un déroulement partiel. La distance entre deux bases est ordinairement de 3, 4 Å. Lorsqu'une molécule d'acridine est intercalée, cette distance double et devient 6,8 Å.

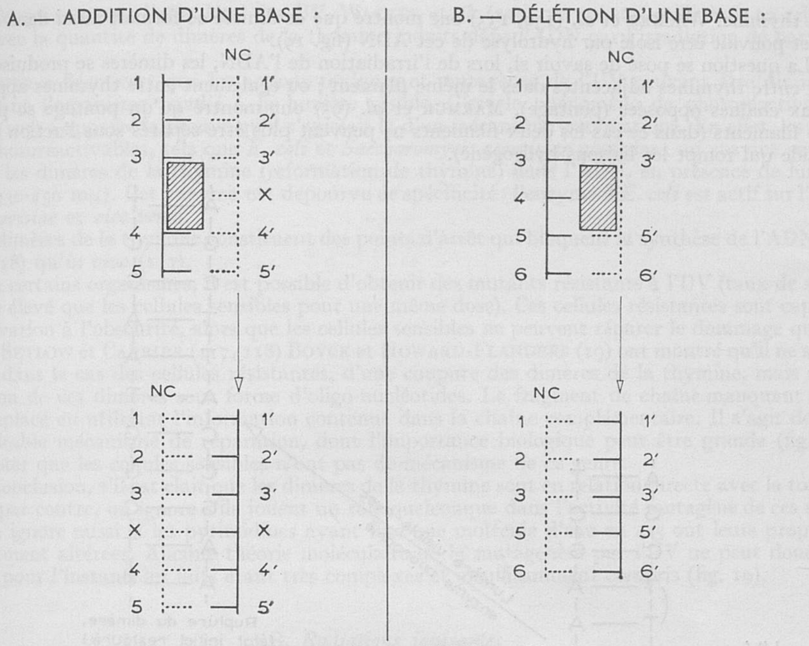
Dans ces conditions, il est possible d'imaginer un mécanisme grâce auquel les acridines peuvent entraîner la perte ou l'addition d'une base au cours de la réplication de l'ADN. La figure 18 montre comment les choses peuvent se passer.

a) Une molécule d'acridine peut se trouver insérée entre deux bases successives du filament d'ADN qui sert de modèle au cours de la réplication. Il existe alors un vide entre deux bases. Ce vide est susceptible d'être occupé par l'insertion d'une base supplémentaire sur le nouveau filament. Cette anomalie sera transmise lors des réplications ultérieures.

b) En sens inverse, on peut penser qu'une molécule d'acridine s'insère entre deux bases du nouveau filament en cours de synthèse, en les séparant de 6,8 Å. Dès lors, une base manquera dans la nouvelle chaîne d'ADN (délétion). Au même titre que la précédente, cette anomalie sera transmise.

F. *Ultraviolet*

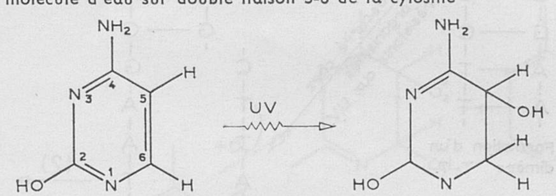
L'ADN absorbe les UV à une longueur d'onde de 254 mμ. Afin d'élucider les phénomènes chimiques complexes qui accompagnent l'irradiation, on a procédé à des études sur des solutions de uncléotides. Alors que les purines ne sont pas altérées, les pyrimidines fixent une molécule d'eau sur la double liaison 4:5. Il s'avère que la cytosine est plus sensible que la thymine à cette transformation (88, 119). D'autre part, BEUKERS et BERENDS (17) ont prouvé qu'il se formait un dérivé



NC = nouvelle chaîne d'ADN synthétisée

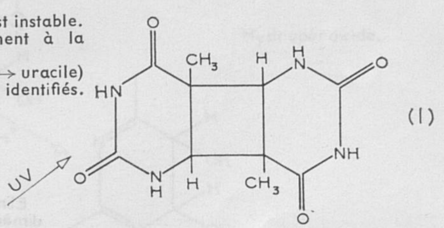
FIG. 18. — *Interaction possible des acridines avec l'ADN*

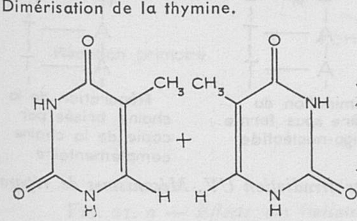
(1) Pas d'effet sur les purines ou le désoxyribose
(2) Fixation d'une molécule d'eau sur double liaison 5-6 de la cytosine

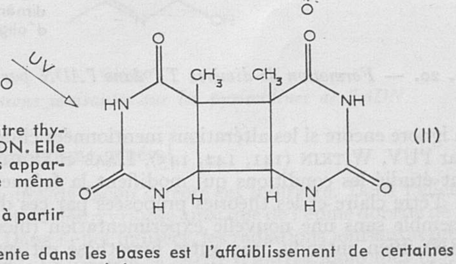


Le produit d'hydratation de la cytosine est instable. La molécule d'eau est éliminée lentement à la température ambiante.
Autres effets: désamination de la cytosine (→ uracile) et formation de plusieurs produits non identifiés.

(3) Dimérisation de la thymine.







Cette dimérisation se produit surtout entre thymines adjacentes sur la même chaîne d'ADN. Elle paraît également possible entre thymines appartenant à des chaînes différentes d'une même double hélice d'ADN (pontage).

(4) Formation d'autres produits non identifiés à partir de la thymine.

(5) Une conséquence de l'altération précédente dans les bases est l'affaiblissement de certaines liaisons sucre-phosphate. Certaines d'entre elles peuvent se briser.

FIG. 19. — *Effets de l'ultraviolet sur l'ADN*

de la thymine. Wacker et *al.* (130, 133) ont montré que ce dimère se formait aussi dans l'ADN *in vivo* et pouvait être isolé par hydrolyse de cet ADN (fig. 19).

La question se pose de savoir si, lors de l'irradiation de l'ADN, les dimères se produisent seulement entre thymines adjacentes dans le même filament ; ou également entre thymines appartenant à deux chaînes opposées (pontage). Marmur et *al.* (95) ont montré qu'un pontage se produisait entre filaments (dans ce cas les deux filaments ne peuvent plus être séparés sous l'action de la formamide qui rompt les liaisons hydrogène).

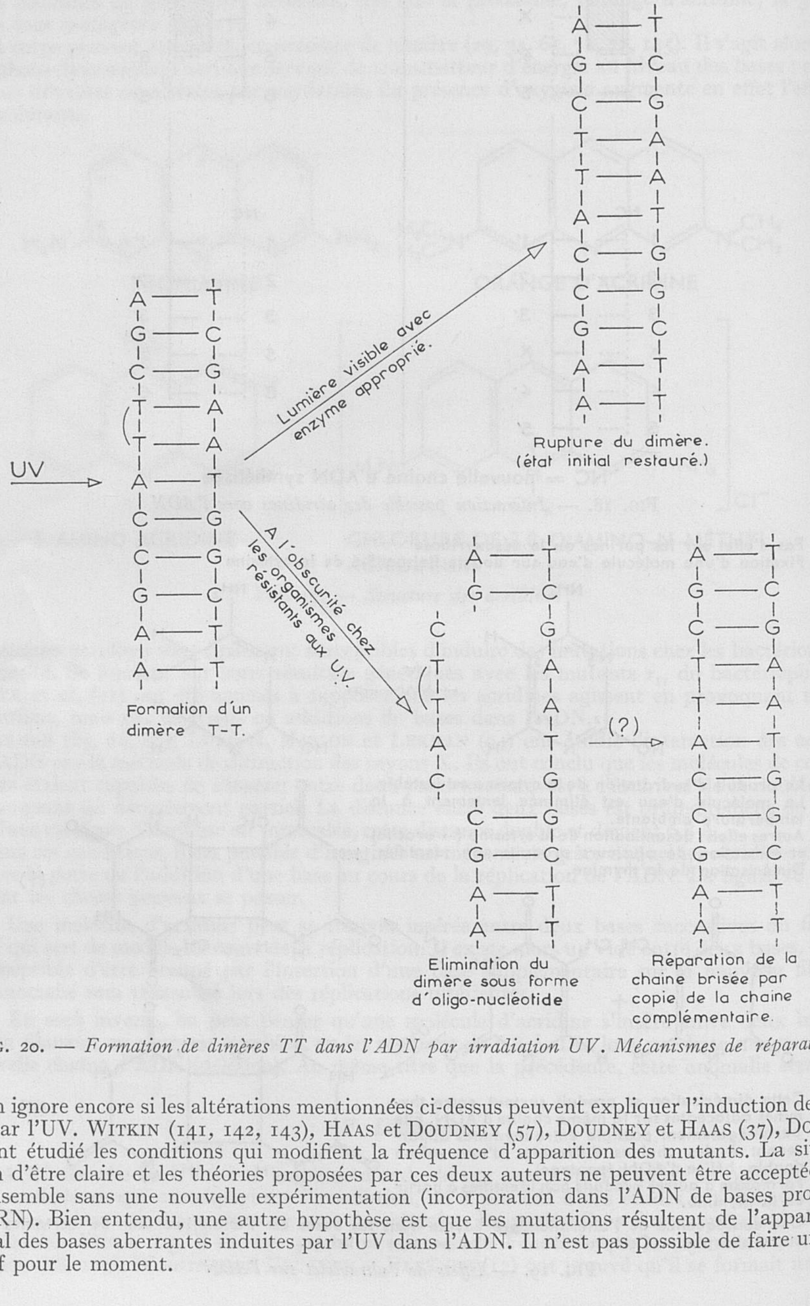


Fig. 20. — *Formation de dimères TT dans l'ADN par irradiation UV. Mécanismes de réparation*

On ignore encore si les altérations mentionnées ci-dessus peuvent expliquer l'induction de mutations par l'UV. Witkin (141, 142, 143), Haas et Doudney (57), Doudney et Haas (37), Doudney (38), ont étudié les conditions qui modifient la fréquence d'apparition des mutants. La situation est loin d'être claire et les théories proposées par ces deux auteurs ne peuvent être acceptées dans leur ensemble sans une nouvelle expérimentation (incorporation dans l'ADN de bases provenant de l'ARN). Bien entendu, une autre hypothèse est que les mutations résultent de l'appariement anormal des bases aberrantes induites par l'UV dans l'ADN. Il n'est pas possible de faire un choix objectif pour le moment.

En ce qui concerne l'effet létal des UV, WACKER et *al.* (132) ont montré qu'il était en relation directe avec la quantité de dimères de la thymine induits dans l'ADN par l'irradiation de bactéries vivantes.

KELNER a découvert que les actions toxiques et mutagènes de l'UV peuvent être diminuées en exposant l'organisme irradié à la lumière visible. C'est le phénomène de photoréactivation. RUPERT (107) a apporté la preuve qu'il s'agissait là d'un mécanisme enzymatique. En effet, les organismes photoréactivables, tels que *E. coli* et *Saccharomyces cerevisiae* possèdent un enzyme capable de briser les dimères de la thymine (reformation de thymine) dans l'ADN, en présence de lumière visible (330-450 mμ). Cet enzyme est depourvu de spécificité : l'enzyme d'*E. coli* est actif sur l'ADN de *S. cerevisiae* et *vice versa.*

Les dimères de la thymine constituent des points d'arrêt qui bloquent la synthèse de l'ADN tant *in vitro* (18) qu'*in vivo* (117).

Chez certains organismes, il est possible d'obtenir des mutants résistants à l'UV (taux de survie bien plus élevé que les cellules sensibles pour une même dose). Ces cellules résistantes sont capables de réactivation à l'obscurité, alors que les cellules sensibles ne peuvent réparer le dommage qu'elles ont subi. SETLOW et CARRIER (117, 118) BOYCE et HOWARD-FLANDERS (19) ont montré qu'il ne s'agissait pas, dans le cas des cellules résistantes, d'une coupure des dimères de la thymine, mais d'une élimination de ces dimères sous forme d'oligo-nucléotides. Le fragment de chaîne manquant serait alors remplacé en utilisant l'information contenue dans la chaîne complémentaire. Il s'agit donc là d'un véritable mécanisme de réparation, dont l'importance biologique peut être grande (fig. 20). A noter que les cellules sensibles n'ont pas de mécanisme de ce genre.

En conclusion, s'il est clair que les dimères de la thymine sont en relation directe avec la toxicité des UV, par contre, on ignore s'ils jouent un rôle quelconque dans l'activité mutagène de ces radiations. On ignore aussi si les pyrimidines ayant fixé une molécule d'eau en 4-5 ont leurs propriétés d'appariement altérées. Aucune théorie moléculaire de la mutagenèse par l'UV ne peut donc être formulée pour l'instant, les faits étant très complexes et insuffisamment compris (fig. 19).

G. *Radiations ionisantes*

Bien que l'action de ces rayonnements sur les acides nucléiques soit étudiée depuis fort longtemps par une série d'auteurs (3, 31, 40, 41, 42, 80, 81, 110 à 118, 134), aucune image complète des phénomènes n'est encore disponible.

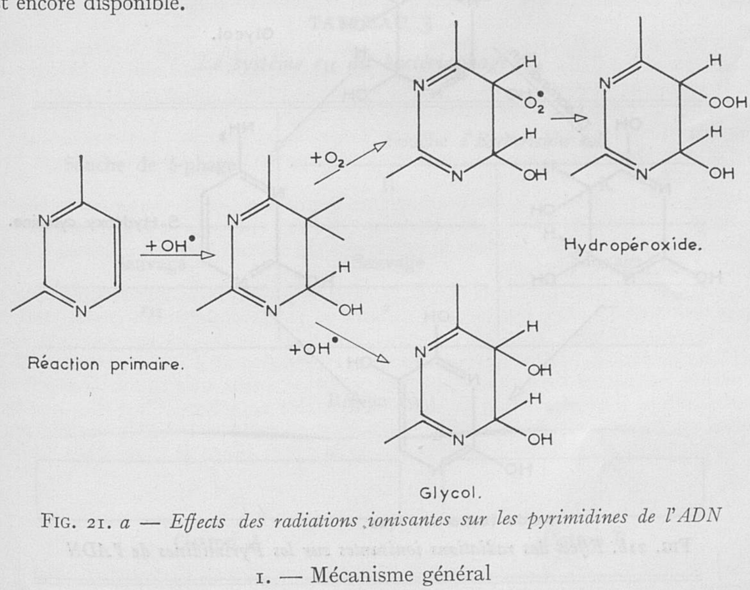


FIG. 21. *a* — *Effects des radiations ionisantes sur les pyrimidines de l'ADN*

1. — Mécanisme général

Les rayons X altèrent les acides nucléiques de façon directe ou indirecte. Dans l'effet direct, il y a rupture des liaisons chimiques des bases et du désoxyribose ainsi que de l'épine dorsale de la molécule d'ADN, —sucre—phosphate—sucre—. Dans l'effet indirect, les radiations ionisantes produisent des radicaux libres, soit à partir de l'eau (H*, OH*), soit à partir d'autres molécules organiques, Ce sont ces radicaux qui attaquent les constituants de l'ADN. L'effet destructif d'une même dose

est plus important en présence d'oxygène, ce qui paraît dû à la formation d'un radical supplémentaire HO^*_2.

WEISS, SCHOLES et *al.* (110 à 116), APELGOT, CONLAY, ECKERT, LATARJET et *al.*(3, 30, 40, 41, 80, 81) ont montré que la réaction primaire, en présence d'eau, est la fixation d'un radical OH* sur la double liaison 5-6 des bases pyrimidiques (fig. 21).

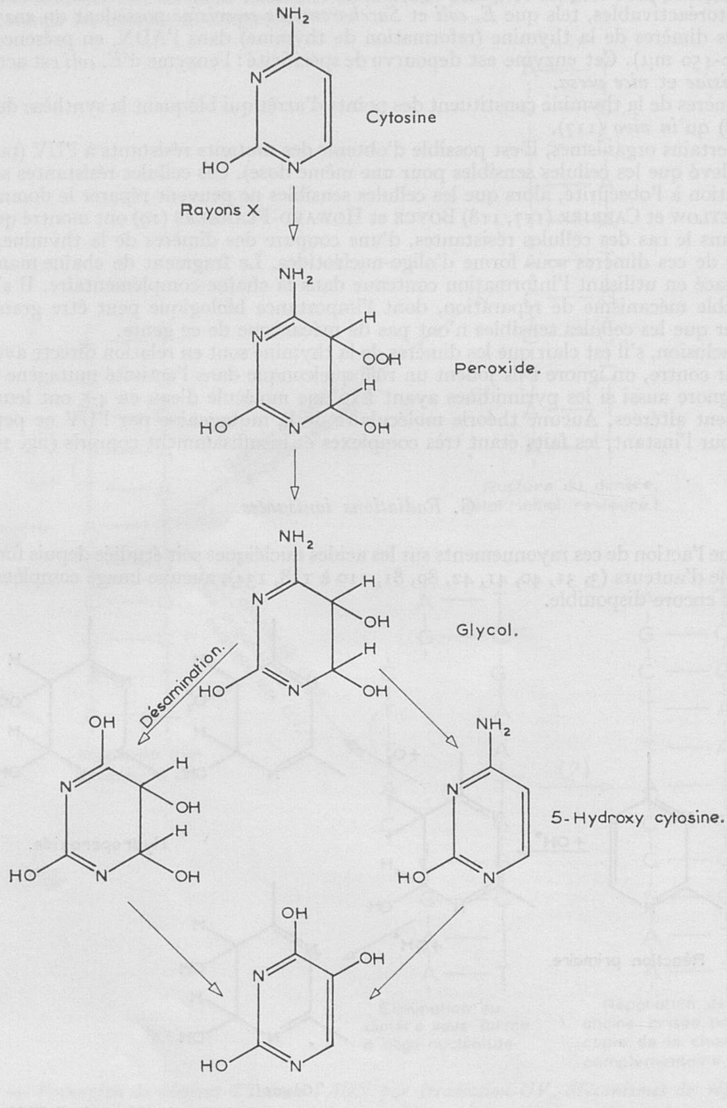


FIG. 21*b*. *Effect des radiations ionisantes sur les Pyrimidines de l'ADN*

2. — Le cas de la cytosine

En présence d'oxygène, il se produit alors une peroxydation de la liaison 5-6. Dans le cas de la thymine, l'hydroperoxyde obtenu existe sous les deux formes *cis* et *trans* qui sont ultérieurement dégradées en glycols *cis* et *trans*. Dans le cas de la cytosine, le glycol est instable et se transforme

en acide barbiturique par deux voies différentes. Dans l'une d'elles il y a formation de 5-hydroxycytosine, analogue de la thymine.

En absence d'oxygène, les bases pyrimidiques fixent deux radicaux OH* sur la double liaison 4-5, formant ainsi directement le glycol. Dans le cas de la cytosine, il y a aussi désamination en uracile.

Le cas des purines a été étudié par HEMS (61 à 63), CONLAY (30) et WACKER (133). Il est beaucoup moins bien élucidé que celui des pyrimidines. Il a été trouvé dans les produits de dégradation de l'adénine, le N-oxide de l'adénine, de la 8-hydroxyadénine, une formamido pyrimidine et la 4,5,6, triamino pyrimidine, ainsi qu'une série d'autres substances non encore identifiées.

Au total, les mécanismes sont complexes et incomplètement élucidés. Dans l'état actuel des connaissances, il est donc impossible de formuler une théorie moléculaire cohérente de la mutagenèse sous l'action des radiations ionisantes.

IV. — ANALYSE EXPÉRIMENTALE DE LA MUTAGENÈSE

La plupart des études faites sur les mécanismes moléculaires des mutations ont utilisé les mutants r_{II} du bactériophage T_4. Il importe donc de décrire ce système avec quelque détail, avant de faire le point des résultats obtenus.

a) *Le système* r_{II} *du bactériophage* T_4

Il a été mis au point par BENZER (12, 13, 15, 16). Lorsque des bactériophages T_4 de type sauvage sont mis en contact, dans une boîte de Petri, avec *Escherichia coli* B, chaque particule produit une plage de lyse de petite taille, avec un halo périphérique, que l'on désigne par r^+. Occasionnellement on rencontre des plages de lyse plus grandes et à bords nets qui sont le fait de particules mutantes de type *r*. Il en existe trois sortes, appelées r_I, r_{II} et r_{III}. Seuls les mutants r_{II} nous intéressent ici. Ils sont incapables de donner des plages de lyse sur une autre souche d'*E. coli*, la souche K comme l'indique le tableau 3.

TABLEAU 3

Le système r_{II} *du bactériophage* T_4

Souche de *b*-phage	Souche *d'Escherichia coli* B	K
Sauvage	Sauvage	Sauvage
r_{II}	*r*	

Région r_{II}

Cistron A — Cistron B

Il est possible de « croiser » deux mutants *r*, d'origine distincte, en infectant *E. coli* avec un mélange de ces mutants. On trouve dans la descendance des particules de type sauvage (r^+) dont la fréquence (fréquence de recombinaison) est une mesure de la distance qui sépare les sites altérés chez les deux mutants. On peut ainsi construire des cartes des sites mutants.

Benzer (13) a trouvé que les mutants r_{II} appartiennent à deux catégories distinctes, sur la base d'un test dit de complémentation (ou test *cis-trans*).

Dans l'expérience *cis*, on infecte *E. coli* K par un mélange de bactériophages de type sauvage (++) et de doubles mutants ($r_a\ r_b$). On constate alors que les bactéries libèrent toujours, en se lysant, des particules appartenant aux deux types initiaux. Autrement dit, les particules (++) permettent la croissance sur K des particules ($r_a\ r_b$) qui en seraient incapables si elles étaient seules.

Dans l'expérience *trans*, on infecte *E. coli* K par un mélange de deux mutants simples distincts ($r_a{}^+$) et (^+r_b). Nous savons qu'aucun d'eux, s'il est seul, ne peut donner de plages de lyse sur *E. coli* K. Cependant, avec l'infection mixte, on obtient — selon les paires de mutants considérés — soit des plages r^+, soit aucune plage. Lorsqu'il apparaît des plages r^+, celles-ci résultent d'un phénomène de complémentation et non d'une recombinaison (on y trouve des deux types $r_a{}^+$ et ^+r_b et pratiquement pas de recombinants ++). Grâce à des expériences *trans*, on peut donc classer les mutants r_{II} en deux groupes fonctionnels distincts A et B. Les mutants du groupe A ne complémentent pas entre eux, ni les mutants du groupe B les uns avec les autres. Par contre, tout mutant de A complémente avec tout mutant de B.

Un autre avantage du système r_{II} est de permettre la détection et la mesure de phénomènes rares de recombinaison. Ainsi, en infectant simultanément *E. coli* B avec deux mutants r_{II} distincts, la descendance comportera une faible proportion de particules de type sauvage (++) qui seront reconnaissables, en ensemencement sur *E. coli* B, par l'aspect de leurs plages de lyse (r^+). Bien plus, si l'on ensemence la descendance sur *E. coli* K, seules les particules (++) recombinantes y produiront des plages de lyse. On a donc un moyen très élégant pour mesurer les pourcentages de recombinaison (rapport R = Nombre de plages de lyse sur K/Nombre de plages de lyse sur B). On peut aisément détecter, de cette façon, des fréquences de recombinaison de l'ordre de 10^{-8}, et construire des cartes indiquant la localisation des sites mutants et leurs distances mutuelles. Pour faciliter ce travail, Benzer a d'ailleurs employé une série de délétions affectant le locus r_{II}.

Benzer (13, 15, 16) a isolé et localisé de cette façon plusieurs milliers de mutants r_{II}, soit d'origine spontanée, soit induits par différents agents mutagènes physiques ou chimiques. Tous sont situés dans une petite région du chromosome.

Nous savons que ces mutants sont distribués en deux groupes A et B de complémentation. Or, la carte des sites révèle que tous les mutants A sont localisés dans un segment et tous les mutants B dans un autre segment adjacent. Selon la terminologie de Benzer, le segment A et le segment B représentent chacun *un cistron* ou unité fonctionnelle. Le cistron A a une longueur d'environ 5 unités et le cistron B une longueur de 3 unités (8 p. 100 de recombinaison entre sites extrêmes des cistrons A et B).

Ainsi, à l'intérieur de chaque cistron se trouvent un grand nombre de sites, distribués linéairement, où des mutations peuvent se produire. Ces mutations suppriment la fonction du cistron.

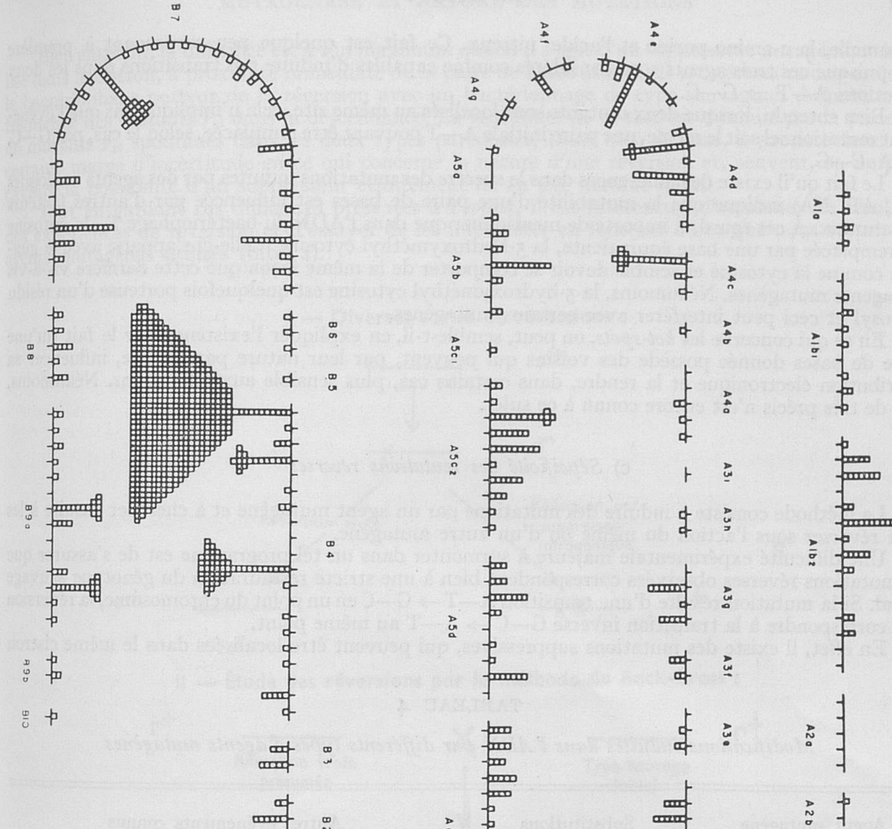
Les résultats des expériences *cis* et *trans* s'interprètent en supposant que les deux cistrons A et B contrôlent chacun la formation d'une chaîne polypeptidique (soient *a* et *b* ces chaînes). La région r_{II} n'est fonctionnelle que si *a* et *b* sont produites. Dans l'expérience *cis*, le chromosome (++) produit évidemment *a* et *b*. Dans l'expérience *trans*, l'un des chromosomes produit *a* et l'autre *b*, il y a donc complémentation.

Par ailleurs, si l'on examine la localisation d'un grand nombre de mutants, on constate qu'elle ne se produit pas au hasard. Ainsi, selon Benzer (16), sur 1612 mutations spontanées réparties en 251 sites distincts, environ 300 affectent le même site du cistron A et 500 le même site du cistron B (on les appelle « *hot spots* ») (fig. 22).

Des expériences récentes (35, 105) ont établi que le chromosome du bactériophage est, en fait, constitué par une double hélice unique d'ADN dont le poids moléculaire correspond à 2×10^5 paires de nucléotides. D'autre part, la longueur génétique totale du chromosome de T_4 est de 800 unités. En conséquence, 1 p. 100 de recombinaison est équivalent à $2{,}5 \times 10^2$ paires de nucléotides et les plus petites fréquences de recombinaison mesurées, qui sont un peu inférieures à 10^{-4}, correspondent certainement à la séparation de deux nucléotides adjacents. C'est dire que la sensibilité du système r_{II} est bien d'ordre moléculaire. Il est donc en principe possible de déterminer si deux mutations distinctes correspondent à l'altération de la même paire de bases dans l'ADN.

b) *Spécificité des mutations directes*

Nous avons déjà signalé la répartition inégale des mutations r_{II} entre les sites à propos des mutants spontanés. On observe une accumulation en certains sites (*hot spots*). Une analyse comparable a été faite pour des mutants induits par différents agents mutagènes : 5-bromouracile (47), 2-amino purine (89), acide nitreux (16, 49), proflavine (21). On constate alors que la distribution des sites mutants spontanés est tout à fait différente de celle des mutants induits : les *hot spots* ne coïncident pas et les sites affectés sont en général autres. D'autre part, si l'on compare les mutants induits entre eux, on trouve aussi des différences, même pour des agents mutagènes tels que le 5-bro-



(*) Clichés reproduits avec l'aimable autorisation de la *National Academy of Sciences, Washington. Proc. nation. Acad. Sci.* 1961, **47**, 410.

FIG. 22. — *Localisation de mutants* r_{II} *spontanés dans les cistrons A et B du bactériophage* T_4.
Chaque carré représente une mutation indépendante.
(D'après BENZER, 1961) (*)

mo-uracile, la 2-amino purine et l'acide nitreux. Ce fait est quelque peu surprenant à première vue puisque ces trois agents sont considérés comme capables d'induire des transitions dans les deux directions A—T ⇄ G—C.

Bien entendu, lorsque deux mutants sont localisés au même site, cela n'implique pas que l'événement mutationnel soit le même, une paire initiale A—T pouvant être remplacée, selon le cas, par G—C, T—A, C—G.

Le fait qu'il existe des différences dans le spectre des mutations induites par des agents analogues (BU, AP, NA) indique que la mutabilité d'une paire de bases est influencée par d'autres facteurs structuraux. A cet égard, il importe de mentionner que dans l'ADN du bactériophage T_4, la cytosine est remplacée par une base équivalente, la 5-hydroxyméthyl cytosine. Celle-ci s'apparie avec la guanine comme la cytosine et semble devoir se comporter de la même façon que cette dernière vis-à-vis des agents mutagènes. Néanmoins, la 5-hydroxyméthyl cytosine est quelquefois porteuse d'un résidu glucosyl et ceci peut interférer avec certains mutagènes.

En ce qui concerne les *hot-spots*, on peut, semble-t-il, en expliquer l'existence par le fait qu'une paire de bases donnée possède des voisins qui peuvent, par leur nature particulière, influencer sa distribution électronique et la rendre, dans certains cas, plus sensible aux altérations. Néanmoins, rien de très précis n'est encore connu à ce sujet.

c) *Sépcificité des mutations réverses*

La méthode consiste à induire des mutations par un agent mutagène et à chercher ensuite à les faire réverser sous l'action du même ou d'un autre mutagène.

Une difficulté expérimentale majeure à surmonter dans un tel programme est de s'assurer que les mutations réverses observées correspondent bien à une stricte restauration du génotype sauvage initial. Si la mutation résulte d'une transition A—T → G—C en un point du chromosome, la réversion doit correspondre à la transition inverse G—C → A—T au même point.

En effet, il existe des mutations suppressives, qui peuvent être localisées dans le même cistron

TABLEAU 4

Modifications induites dans l'ADN par différents types d'agents mutagènes

Agent mutagène	Substitutions	Autres événements connus
5 — Bromo uracile (BU)	A — T ⇆ G — C	—
2 — Animo purine (AP)	A — T ⇆ G — C	—
Acide nitreux (NA)	A — T ⇆ G — C	Pontage entre chaînes
Hydroxylamine (HA)	G — C → A — T	(?)
Agents alkylants Ex. Ethane sulfonate d'éthyle (ESE)	G — C → A — T G — C → T — A (?) G — C ⇄ C — G (?)	Perte d'une base (?) Pontage enlre chaînes (pour un agent bifonctionnel)
Acridines à l'obscurité	—	Perte ou addition de bases (?)
Ultra-violet	?	Fixation de H_2O sur la liaison 5-6 des pyrimidines Formation de dimères de la thymine
Radiations ionisantes	?	Altérations complexes des bases puriques et pyrimidiques. Cassure de l'épine dorsale P-S-P-S

(suppresseur intragénique) ou dans un autre cistron (suppresseur extragénique) et qui ont la propriété de restaurer la fonction du gène sans pour autant que le génotype retourne à son état initial. En fait, la réversion observée correspond alors à une double mutation (fig. 23)

Bien entendu, la difficulté est à son maximum quand il s'agit d'un suppresseur intragénique localisé dans le cistron, à proximité immédiate de la paire de bases altérée. Il est nécessaire de « croiser » le bactériophage porteur de la réversion avec un bactériophage de type sauvage et de mesurer la fréquence des mutants r_{II} dans la descendance. La sensibilité de ce test est diminué par la présence de mutants r_{II} spontanés dans les deux types parentaux, Dans bien des cas, il subsiste donc une certaine marge d'incertitude en ce qui concerne la nature d'une réversion et, souvent, on ne peut exclure la possibilité d'un suppresseur étroitement lié au site mutant initial.

Tout en gardant ces difficultés présentes à l'esprit, il est intéressant d'examiner les résultats des expériences de réversion et d'essayer de les interpréter en fonction de ce que nous savons des agents mutagènes utilisés (tabl. 4).

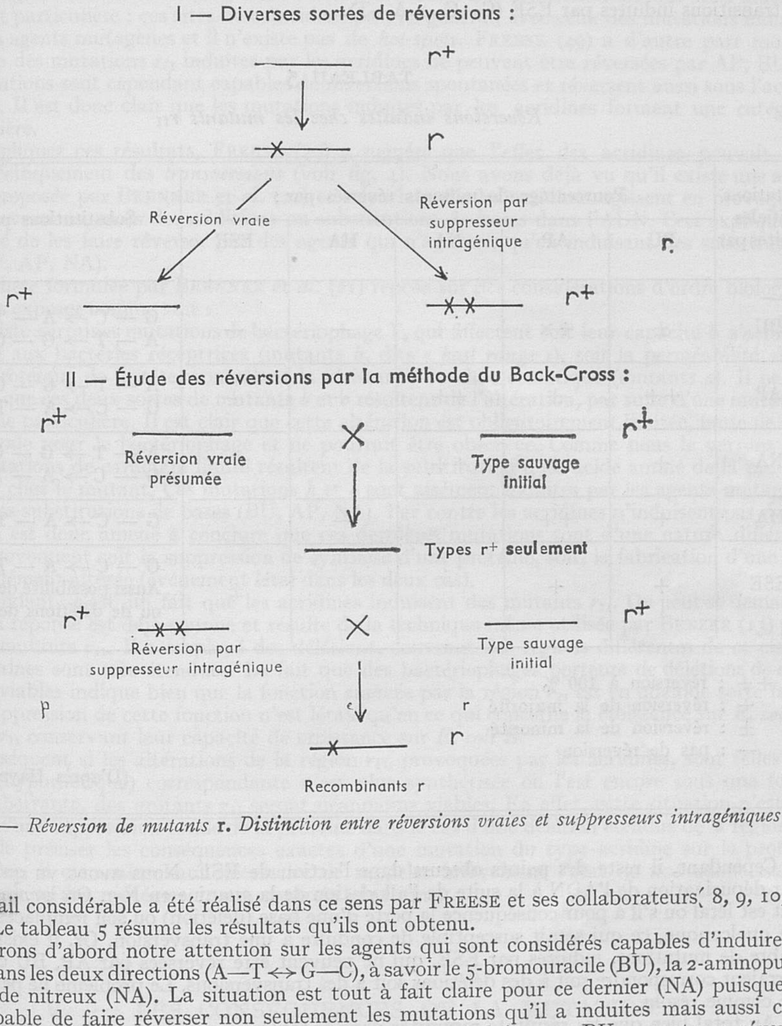


FIG. 23. — *Réversion de mutants* **r**. *Distinction entre réversions vraies et suppresseurs intragéniques*

Un travail considérable a été réalisé dans ce sens par FREESE et ses collaborateurs (8, 9, 10, 47 49, 50, 51). Le tableau 5 résume les résultats qu'ils ont obtenu.

Concentrons d'abord notre attention sur les agents qui sont considérés capables d'induire des transitions dans les deux directions (A—T ↔ G—C), à savoir le 5-bromouracile (BU), la 2-aminopurine (AP) et l'acide nitreux (NA). La situation est tout à fait claire pour ce dernier (NA) puisque cet agent est capable de faire réverser non seulement les mutations qu'il a induites mais aussi celles induites par BU et AP. Par contre, la plupart des mutations induites par BU ne sont pas réversées par BU et la plupart de celles induites par AP ne sont pas réversées par AP. Toutefois BU fait réverser très efficacement les mutations induites par AP et réciproquement. Ceci s'interprète aisément si l'on admet que les transitions induites par BU sont en majorité dans une seule direction, alors que celles induites par AP sont en majorité dans l'autre direction. Il est possible de préciser ces directions. En effet, nous savons que l'hydroxylamine (HA) induit en majorité des transitions unidirectionnelles G—C → A—T. Le tableau confirme cette prédiction, puisque les mutations induites par HA ne sont

pas réversées par cet agent. On constate d'autre part que HA ne fait pas réverser les mutations induites par BU, mais fait réverser efficacement celles induites par AP. En conclusion on peut donc dire que :

BU induit surtout des transitions dans le sens G—C → A—T
AP induit surtout des transitions dans le sens A—T → G—C
NA induit des transitions dans les deux directions A—T ↔ G—C

Avec un agent alkylant comme l'éthane sulfonate d'éthyle (ESE), on s'attend à ce que les transitions soient dans le sens G—C → A—T. Effectivement une fraction élevée des mutants induits par ESE sont réversés par BU et AP. D'autre part, ces mêmes mutations ne sont en général pas réversées par ESE. De plus ESE ne réverse pas les mutations induites par BU (G—C → A—T), mais réverse celles induites par AP (A—T → G—C), ce qui est en excellent accord avec la nature probable des transitions induites par ESE (G—C → A—T).

TABLEAU 5

Réversions induites chez les mutants r_{II}

Mutations initiales induites par	Pourcentage de mutants réversés par :					Substitutions présumées
	BU	AP	NA	HA	ESE	
BU	±	+×	++	—	—	G — C → A — T (fréquent) A — T → G — C (rare)
AP	++	±	++	+	+	A — T → G — C (fréquent) G — C → A — T (rare)
NA	+	+	++			A — T → G — C G — C → A — T } également fréquent
HA	+	++		—		G — C → A — T
ESE	+	+			±	G — C → A — T Aussi possibilité de transversions ou de délétions de bases (?)

++ : réversion à 100 %
\+ : réversion de la majorité
± : réversion de la minorité
— : pas de réversion

(D'après Hayes, 1964)

Cependant, il reste des points obscurs dans l'action de ESE. Nous avons vu qu'il pouvait y avoir dépurination de l'ADN à la suite de l'alkylation de la guanine en N-7. On ignore si cet événement est létal ou s'il a pour conséquence la perte d'une base (délétion) ou son remplacement par une base quelconque, ce qui serait susceptible de conduire à une transversion. Or, il existe un certain nombre de mutations, induites par ESE, qui ne peuvent être réversées par AP, BU ou NA et qui pourraient correspondre soit à des délétions soit à des transversions. Le problème ne peut être considéré comme résolu.

Au total bien que les résultats rapportés dans le tableau 4 révèlent quelques contradictions, il existe néanmoins un assez bon accord avec les prévisions. Compte tenu de ce que BU et HA induisent une majorité de transitions dans le sens G—C → A—T, on peut conclure que les mutations qui réversent sous l'action de ces deux agents devaient comporter au départ une paire A—T au site mutant. De même, AP induisant une majorité de transitions dans le sens A—T → G—C les mutations qui réversent sous l'action de AP, et sont insensibles à BU ou HA, devaient comporter au départ une paire G—C au site mutant. En appliquant ces principes, CHAMPE et BENZER (27) ont analysé 339 mutants r_{II} et

en ont identifié 125 comme des transitions. Sur ce nombre, 62 ont pu être classés avec précision, et il a pu être établi sans ambiguïté que, dans l'ADN initial 16 possédaient une paire A—T et 46 une paire C—G au site altéré par mutation. Les 63 transitions restantes n'ont pu être classées pour des raisons techniques diverses. Enfin, les sites non réversibles par AP ou BU sont considérés comme des transversions ou des délétions. Ceci nous amène donc à parler de l'action mutagène très particulière des acridines à l'obscurité.

d) *Nature des mutations induites par les acridines*

Nous avons vu (S 3-E) que les acridines sont mutagènes pour le bactériophage T_4 et induisent des mutants r_{II}. Brenner et *al.* (20), Benzer (16) ont établi que la distribution des sites mutants est tout à fait particulière : ces sites ne coïncident pas, en général, avec ceux des mutations induites par les autres agents mutagènes et il n'existe pas de *hot-spots*. Freese (49) a d'autre part montré que 98 p. 100 des mutations r_{II} induites par les acridines ne peuvent être réversées par AP, BU ou NA. Ces mutations sont cependant capables de réversions spontanées et réversent aussi sous l'action des acridines. Il est donc clair que les mutations induites par les acridines forment une catégorie bien particulière.

Pour expliquer ces résultats, Freese (49) a suggéré que l'effet des acridines pouvait être d'induire spécifiquement des *transversions* (voir fig. 4). Nous avons déjà vu qu'il existe une autre hypothèse, proposée par Brenner et *al.* (21) et selon laquelle les acridines agissent en provoquant non des transversions, mais des additions ou substitutions de bases dans l'ADN. Ceci expliquerait l'impossibilité de les faire réverser par des agents qui n'agissent qu'en induisant des substitutions de bases (BU, AP, NA).

L'hypothèse formulée par Brenner et *al.* (21) repose sur des considérations d'ordre biologique que l'on peut exposer comme suit :

1° Il existe certaines mutations de bactériophage T_4 qui affectent soit leur capacité à s'attacher par la queue aux bactéries réceptrices (mutants *h*, dits « *host range* »), soit la perméabilité de la membrane protéique de la tête, contrôlant la résistance au choc osmotique (mutants *o*). Il ne fait aucun doute que ces deux sortes de mutants *h* et *o* résultent de l'altération, par suite d'une mutation, d'une protéine particulière. Il est clair que cette altération est obligatoirement limitée, faute de quoi elle serait létale pour le bactériophage et ne pourrait être observée. Comme nous le verrons plus tard, ces mutations de caractère limité résultent de la substitution d'un acide aminé de la protéine par un autre chez le mutant. Ces mutations *h* et *o* sont aisément induites par les agents mutagènes entraînant des substitutions de bases (BU, AP, NA). Par contre les acridines n'induisent pas de tels mutants. On est donc amené à conclure que ces dernières mutations sont d'une nature différente et qu'elles provoquent soit la suppression de synthèse d'une protéine, soit, la fabrication d'une protéine profondément altérée (événement létal dans les deux cas).

2° Cependant, c'est un fait que les acridines induisent des mutants r_{II}. On peut se demander pourquoi. La réponse est déjà connue et résulte de la technique même utilisée par Benzer (13) pour localiser les mutants r_{II}. Il a employé des délétions, couvrant des régions différentes de ce cistron et dont certaines sont très étendues. Le fait que des bactériophages porteurs de délétions de cette taille soient viables indique bien que la fonction exercée par la région r_{II} est en quelque sorte facultative. La suppression de cette fonction n'est létale qu'en ce qui concerne la croissance sur *E. coli* K, les mutants r_{II} conservant leur capacité de croissance sur *E. coli* B.

Par conséquent si les altérations de la région r_{II}, provoquées par les acridines, sont telles que la protéine (hypothétique) correspondante n'est plus synthétisée ou l'est encore sous une forme hautement aberrante, des mutants r_{II} seront néanmoins viables. En effet, cette situation n'est pas plus grave qu'une suppression totale de la protéine dans le cas d'une délétion étendue de la région r_{II}.

Avant de préciser les conséquences exactes d'une mutation du type acridine sur la protéine correspondante, il est maintenant nécessaire de rappeler brièvement l'état de nos connaissances sur la biosynthèse des protéines et son contrôle génétique.

V. — LES CONSÉQUENCES DE LA MUTATION AU NIVEAU DES PROTÉINES

a) *La structure des protéines*

Les protéines sont constituées d'acides aminés. Il en existe 20 essentiels que tout organisme doit synthétiser (ou se procurer à partir d'une source extérieure) pour pouvoir croître.

A l'intérieur d'une protéine, ces acides aminés sont liés les uns aux autres en file linéaire par des liaisons peptidiques. A ces chaînes on donne le nom de polypeptides. Une protéine peut être constituée d'une ou de plusieurs chaînes. Dans ce dernier cas, les chaînes peuvent être reliées les unes aux autres par des liaisons —S—S—. A titre d'exemples :

— L'insuline comporte deux polypeptides contenant respectivement 21 et 30 résidus d'acides aminés.

— La ribonucléase comporte une seule chaîne ayant 124 résidus d'acides aminés.

— L'hémoglobine ($\alpha^2\beta^2$) comporte deux chaînes α et deux chaines β, ayant chacune environ 150 résidus d'acides aminés.

La spécificité d'une protéine résulte de la séquence particulière d'acides aminés qui compose sa ou ses chaînes polypeptidiques. A cette séquence on donne le nom de structure primaire de la protéine. Il existe actuellement des méthodes qui permettent de déterminer cette séquence (voir la revue par SANGER (108). Celle-ci est connue pour les trois enzymes mentionnés plus haut, ainsi que pour quelques autres dont l'unité protéique élémentaire du virus de la mosaïque du tabac.

A l'intérieur d'une protéine, les chaînes polypeptidiques ne sont pas droites, mais enroulées, souvent en hélice. On donne à cette configuration le nom de structure secondaire.

TABLEAU 6

Nature des substitutions d'acides aminés dans les hémoglobines humaines anormales

Chaîne α

Nº du résidu	1	2	16	30	57	58	68	141
NORMAL	val.	leu	lys$^+$	glu$^-$	gly.	his$^+$	asp N	arg$^+$
Hb — I			asp$^-$					
Hb — G (Honolulu)				glu N				
Hb — Norfolk					asp$^-$			
Hb — M (Boston)						tyr		
Hb — G (Philadelphia)							lys$^+$	

Chaîne β

Nº du résidu	1	2	3	6	7	26	63	67	121	146
NORMAL	val.	his$^+$	leu	glu$^-$	glu$^-$	glu$^-$	his$^+$	val	glu$^-$	his$^+$
Hb — S				val						
Hb — C				lys$^+$						
Hb — G (San José)					gly					
Hb — E						lys$^+$				
Hb — M (Saskatoon)							tyr			
Hb — Zurich							arg$^+$			
Hb — M (Milwaukee)								glu		
Hb — D (Punjab)									glu.N	

D'autre part ces hélices sont repliées sur elles-mêmes, souvent d'une façon fort complexe comme cela a été montré par KENDREW et PERUTZ (78) pour la myoglobine, par une remarquable méthode, utilisant l'analyse par diffraction des rayons X. On parle alors de structure tertiaire. Enfin, il peut exister une structure quaternaire : c'est le cas de l'hémoglobine où l'on observe l'association de quatre sous-unités (2 α et 2 β).

Dans l'état actuel des connaissances, on a toutes raisons de penser que la structure tertiaire d'une protéine, dont dépend son activité biologique, est entièrement déterminée par la séquence des acides aminés de sa ou ses chaînes polypeptidiques.

La première indication relative à l'effet des mutations sur les protéines fut obtenue par INGRAM (73) au cours de ses études sur les hémoglobines humaines. Il montra que, dans l'hémoglobine anor-

male S, un résidu d'acide glutamique de la chaîne β est remplacé par de la valine. Cette anomalie est transmise comme un gène semi-dominant. Les individus qui possèdent ce gène à l'état homozygote souffrent d'une anémie grave et leurs hématies sont falciformes.

Depuis lors, ces études ont été considérablement étendues (6). De nombreuses hémoglobines anormales ont été analysées. Dans la plupart des cas, elles diffèrent du type normal par le remplacement d'un seul acide aminé (tabl. 6).

TSUGITA et FRAENKEL-CONRAT (127, 128), WITTMAN (144) ont étudié les altérations subies par la protéine chez des mutants du virus de la mosaïque du tabac, induits par divers agents mutagènes. Ils ont également trouvé que les mutants diffèrent du type sauvage par la substitution d'un acide aminé par un autre. De nombreuses sortes de substitutions ont été rencontrées.

HELINSKI et YANOFSKY (60, 146, 147, 148) ont procédé à des recherches du même ordre avec la tryptophane-synthétase extraite d'*E. coli*. Une mutation qui fait disparaître l'activité enzymatique se traduit souvent par la formation d'un enzyme non fonctionnel dans lequel un acide aminé est remplacé par un autre.

Avant d'examiner plus en détail le sens de ces substitutions d'acides aminés et leur relation avec l'événement mutationnel, il est nécessaire de donner quelques indications sommaires sur les mécanismes de la biosynthèse des protéines.

b) *Schéma de la biosynthèse des protéines*

La figure 24 résume sous une forme très schématique ce que l'on sait actuellement sur ce processus (100).

L'information génétique pour la synthèse des protéines est inscrite dans la double hélice d'ADN sous la forme de séquences particulières des 4 bases A, G, T, C. Un certain nombre de faits expérimentaux, sur lesquels nous reviendrons, conduisent à penser qu'une suite de 3 bases (dénommée

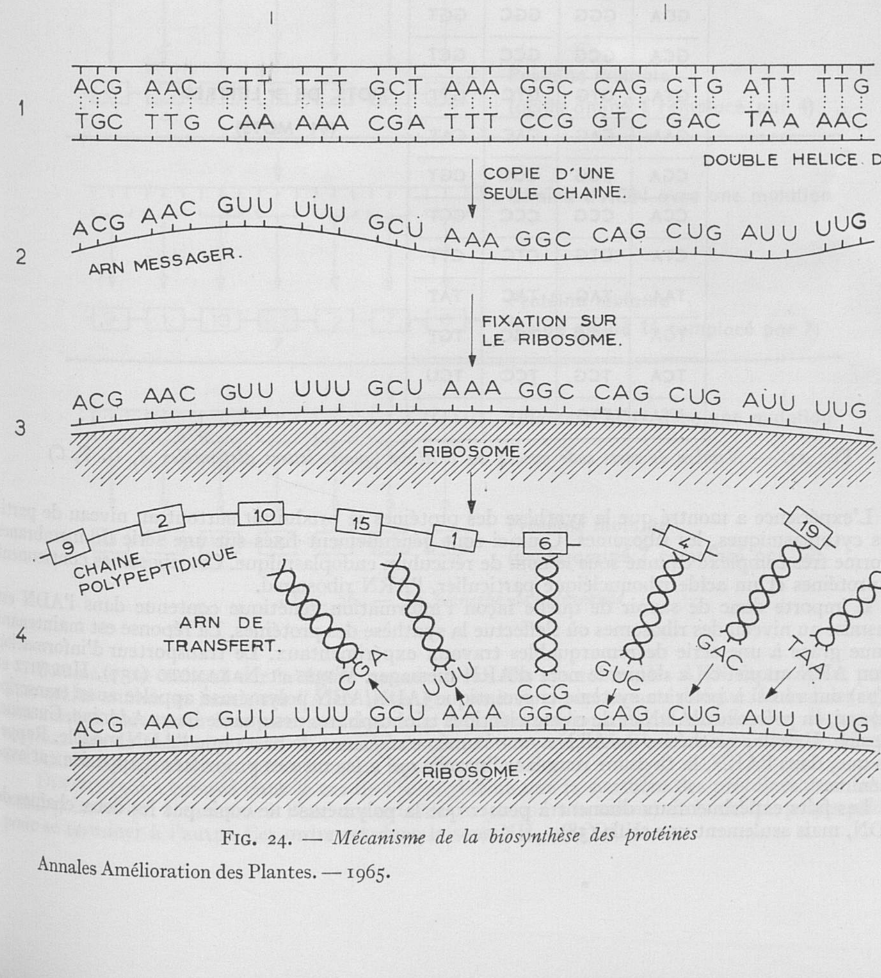


FIG. 24. — *Mécanisme de la biosynthèse des protéines*

codon) correspond à un acide aminé particulier. On notera qu'avec les quatre lettres A, G, T, C on peut former 64 codons (= mots) différents (fig. 25). Or, il n'existe que 20 acides aminés essentiels: Il semble donc y avoir un excès de mots. Ceci peut s'interpréter en supposant que le code est dégénéré : plusieurs codons distincts seraient susceptibles de coder pour le même acide aminé. Au surplus, il paraît probable que certains codons sont dépourvus de sens.

Le codon à trois lettres est évidemment la solution la plus simple possible. En effet, si les codons n'avaient que deux lettres, ils ne pourraient coder au maximum que 16 acides aminés, sur un total de 20 (fig. 25).

AA	AG	AC	AT
GA	GG	GC	GT
CA	CG	CC	CT
TA	TG	TC	TT

MOTS DE 2 LETTRES (16 MOTS)

AAA	AAG	AAC	AAT
AGA	AGG	AGC	AGT
ACA	ACG	ACC	ACT
ATA	ATG	ATC	ATT
GAA	GAG	GAC	GAT
GGA	GGG	GGC	GGT
GCA	GCG	GCC	GCT
GTA	GTG	GTC	GTT
CAA	CAG	CAC	CAT
CGA	CGG	CGC	CGT
CCA	CCG	CCC	CCT
CTA	CTG	CTC	CTT
TAA	TAG	TAC	TAT
TGA	TGG	TGC	TGT
TCA	TCG	TCC	TCU
TTA	TTG	TTC	TTT

MOTS DE 3 LETTRES (64 MOTS)

FIG. 25. — *Nombre de mots code avec 2 ou 3 lettres (quatre lettres disponibles A, G. T, C)*

L'expérience a montré que la synthèse des protéines se produisait surtout au niveau de particules cytoplasmiques, les ribosomes. Ceux-ci sont généralement fixés sur une série de membranes de forme très complexe connue sous le nom de réticulum endoplasmique. Ces ribosomes contiennent des protéines et un acide ribonucléique particulier, l'ARN ribosomal.

Il importe donc de savoir de quelle façon l'information génétique contenue dans l'ADN est transmise au niveau des ribosomes où s'effectue la synthèse des protéines. La réponse est maintenant connue grâce à une série de remarquables travaux expérimentaux. Le transporteur d'information est un ARN auquel on a donné le nom d'ARN messager. WEISS et NAKAMOTO (137), HURWITZ et *al.* (72) ont réussi à isoler un système enzymatique (ADN/ARN polymérase appelée aussi transcriptase) qui, en présence d'ADN et de ribonucléotides triphosphates des quatre bases Adénine, Guanine, Cytosine, Uracile, synthétise un ARN ayant la même séquence de bases que l'ADN modèle. Rappelons que, dans l'ARN, la thymine remplace l'uracile qui a les mêmes propriétés d'appariement avec l'adénine.

Les faits expérimentaux donnent à penser que la polymérase ne copie pas les deux chaînes de l'ADN, mais seulement une seule (58).

L'ARN messager transmet donc l'information génétique aux ribosomes. Il y rencontre les acides aminés, matière première pour la synthèse des chaînes polypeptidiques. Ces acides aminés ne sont pas sous forme libre, ils sont combinés à des ARN spécifiques particuliers, connus sous le nom d'ARN de transfert.

L'union d'un acide aminé avec son ARN de transfert spécifique nécessite la présence d'un enzyme d'activation, lui-même spécifique.

On a des raisons de penser que la spécificité d'un ARN pour un acide aminé particulier réside dans une séquence particulière de bases en un point de la molécule. Il est admis qu'il s'agit d'un triplet. Les enzymes d'activation sont capables de différencier entre les différents acides aminés et les différents ARN de transfert en effectuant les couplages corrects. CHAPEVILLE et *al.* (28) ont montré que le complexe (cystéine—ARN de transfert) pouvait être traité chimiquement de telle sorte que la cystéine soit transformée *in situ* en alanine. On constate alors que cette alanine est incorporée dans les protéines à la place de la cystéine.

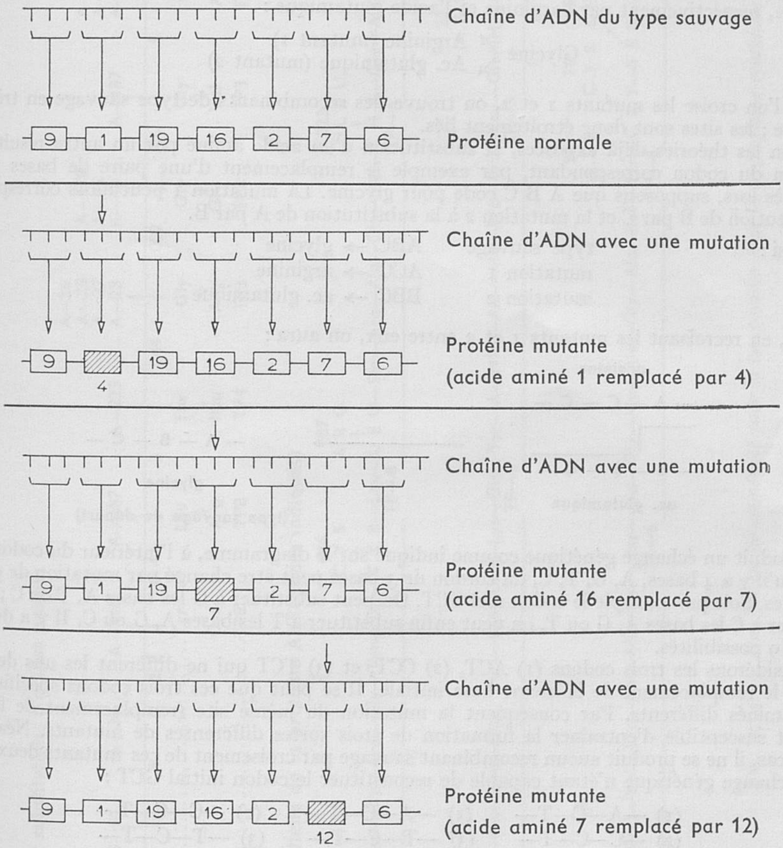


FIG. 26. — *Le principe de colinéarité*

Comme il est indiqué sur la figure 24, au niveau des ribosomes, les ARN de transfert portant leurs acides aminés se fixent sur l'ARN messager par leur triplet caractéristique. Les acides aminés sont ainsi en place pour leur incorporation dans la chaîne polypeptidique sous l'action d'un système enzymatique de polymérisation. Les ARN de transfert ayant libéré leur acide aminé se détachent de l'ARN messager et sont prêts pour un nouveau transfert.

DINTZIS (36) a prouvé dans le cas de l'hémoglobine que la synthèse des protéines était un processus polarisé qui commence à l'une des extrémités (toujours la même) de la chaîne polypeptidique pour se terminer à l'autre. Cet ordre est dans le sens $NH_2 \rightarrow COOH$.

c) Le principe de colinéarité

Il est opportun d'exprimer, de façon nette, un principe sous-jacent dans toutes les conceptions et hypothèses que nous venons d'exposer. Selon ce principe la séquence des bases le long d'une double hélice d'ADN (la séquence des codons dans le gène) détermine la séquence des acides aminés dans la chaîne polypeptidique que cet ADN spécifie. Par conséquent, si nous considérons un certain nombre de mutants d'un même cistron, il doit y avoir correspondance exacte entre la position des sites sur la carte génétique et la place des acides aminés substitués dans la chaine polypeptidique (fig. 26).

Deux séries d'expériences ont permis de prouver qu'il en était bien ainsi :

a) Il s'agit tout d'abord des expériences de Yanofsky et *al.* (60, 146, 147, 148) sur la composante A de la tryptophane-synthétase d'*E. coli.* Dans une première expérience, ces auteurs ont démontré que deux sites mutationnels étroitement liés sur la carte génétique conduisent à des substitutions d'acides aminés en des points identiques ou très voisins. Helinski et Yanofsky (60) ont ainsi trouvé que deux mutations indépendantes conduisent au remplacement du même acide aminé, la glycine, respectivement par l'arginine et l'acide glutamique :

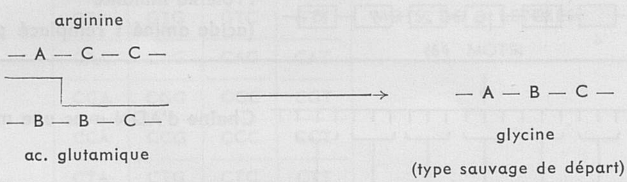
Glycine ↗ Arginine (mutant 1)
↘ Ac. glutamique (mutant 2)

Lorsque l'on croise les mutants 1 et 2, on trouve des recombinants de type sauvage en très faible fréquence ; les sites sont donc étroitement liés.

Selon les théories déjà exposées, la substitution d'un acide aminé par un autre résulte d'une altération du codon correspondant, par exemple le remplacement d'une paire de bases par une autre. Dès lors, supposons que A B C code pour glycine. La mutation 1 peut alors correspondre à la substitution de B par C et la mutation 2 à la substitution de A par B.

Ainsi :	type sauvage	ABC → glycine
	mutation 1	ACC → arginine
	mutation 2	BBC → ac. glutamique

Dès lors, en recroisant les mutants 1 et 2 entre eux, on aura :



s'il se produit un échange génétique comme indiqué sur le diagramme, à l'intérieur du codon. Étant donné qu'il y a 4 bases, A, G, T, C, un cordon de 3 bases peut être changé par mutation de 9 façons différentes. Soit par exemple le codon réel GCT. On peut substituer à G les bases A, T ou C ; on peut substituer à C les bases A, G ou T, on peut enfin substituer à T les bases A, G ou C. Il y a donc bien au total 9 possibilités.

Considérons les trois codons (1) ACT, (2) CCT, et (3) TCT qui ne diffèrent les uns des autres que par le remplacement de la même base initiale. Il se peut que ces trois codons spécifient trois acides aminés différents. Par conséquent la mutation du même site (remplacement de la même base) est susceptible d'entraîner la formation de trois sortes différentes de mutants. Néanmoins, dans ce cas, il ne se produit aucun recombinant sauvage par croisement de ces mutants deux à deux, aucun échange génétique n'étant capable de reconstituer le codon initial GCT :

(1) —A—C—T—	(1) —A—C—T—	(2) —C—C—T—
(2) —C—C—T—	(3) —T—C—T—	(3) —T—C—T—

Yanofsky et *al.* (148) ont examiné les substitutions d'acides aminés en certains points définis de la protéine A. Ils ont trouvé, à une certaine position, six remplacements différents du même acide aminé. Ils ont également établi que trois de ces remplacements correspondaient à la situation décrite ci-dessus, c'est-à-dire à des altérations génétiques du même site (de la même base).

Nous avons déjà mentionné que le code était très certainement dégénéré, en ce sens qu'un même acide aminé est spécifié par plusieurs codons. On peut donc s'attendre à trouver moins de 9 substitutions différentes du même acide aminé. Au surplus, il se peut que certaines substitutions n'entraînent pas d'altération détectable de l'activité enzymatique. De tels mutants passeront donc inaperçus.

Yanofsky et *al.* (147) ont récemment donné une démonstration irréfutable du principe de colinéarité. Ils ont utilisé 16 mutants correspondant à des altérations de la protéine A de la tryptophane-synthétase et affectant une série continue de 75 résidus d'acides aminés. Pour l'analyse de séquence,

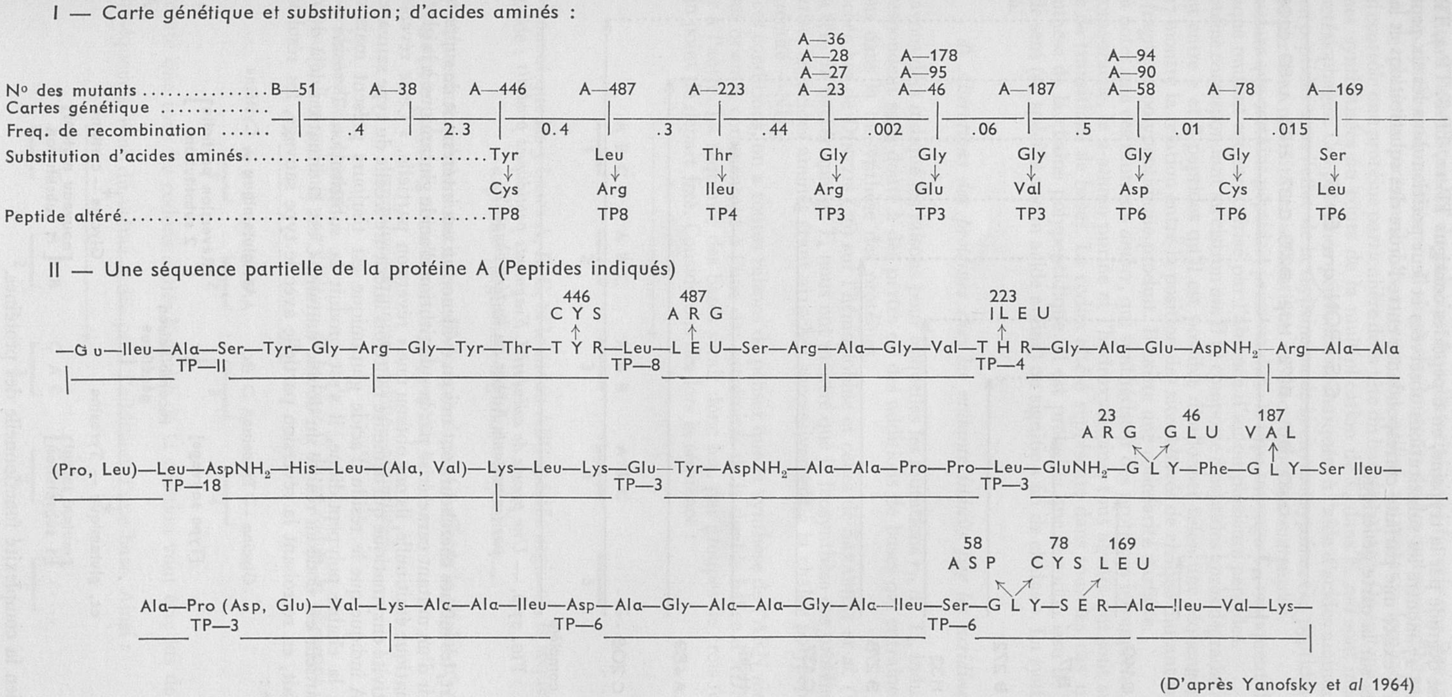


FIG. 27 *a*. — *Une preuve de colinéarité pour la composante A de la tryptophane synthétase*

ce polypeptide est dégradé par la trypsine, en 6 peptides contigus TP-11, TP-8, TP-4, TP-18, TP-3 et TP-6. La figure 27 montre les substitutions observées et leur position dans les six peptides. Elle indique aussi qu'il existe une parfaite correspondance entre l'ordre des substitutions et la séquence des sites mutants sur la carte génétique.

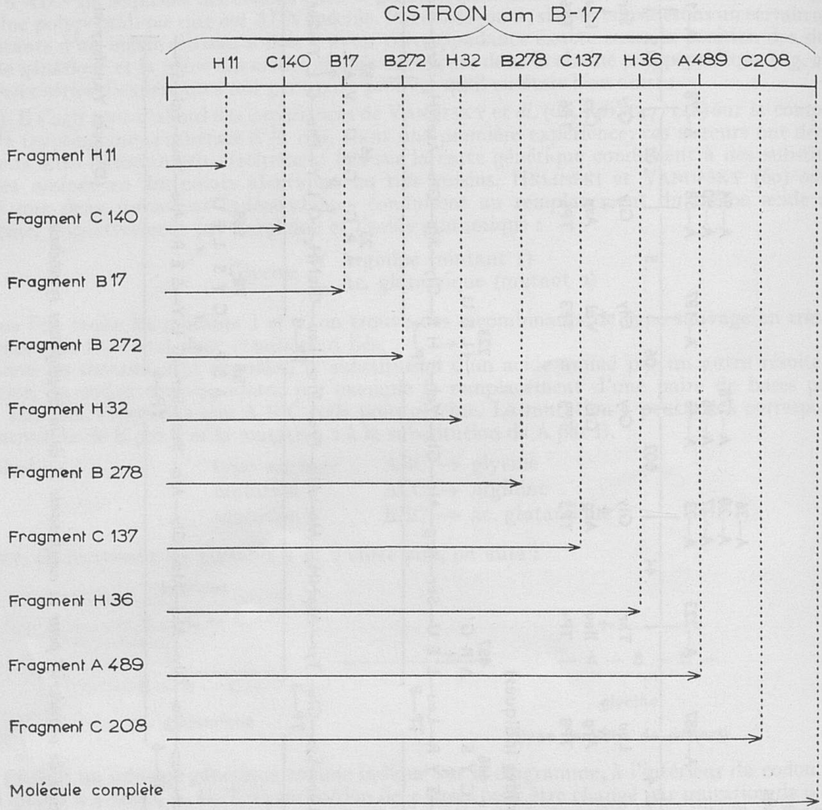
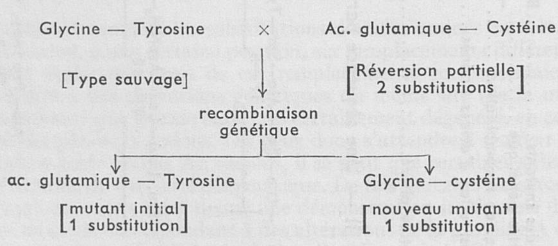


FIG. 27 *b.* — *Une preuve de colinéarité. Fragments peptidiques produits par les mutants* Amber *du bactériophage* T_4

D'autre part, les mêmes chercheurs ont mis en évidence un cas intéressant de suppresseur intragénique. A partir d'un mutant caractérisé par la substitution d'acide glutamique à la glycine et dont l'activité enzymatique était nulle, ils ont obtenu une « réversion partielle. » Cette réversion montre une certaine activité enzymatique qui demeure toutefois inférieure à celle du type sauvage. L'analyse de la protéine A indique que le résidu d'acide glutamique est toujours présent mais que, en un autre point de la chaîne polypeptidique, il s'est produit la substitution Tyrosine → Cystéine La réversion partielle est donc en réalité un double mutant. C'est la situation déjà décrite dans la figure 23. De fait, en recroisant la réversion partielle avec le type sauvage, les résultats suivants furent observés :



Ceci indique bien la complexité fonctionnelle des protéines.

b) Une autre démonstration du principe de colinéarité a été fournie par SARABHAI et *al.* (109) en utilisant un système tout différent. Il s'agit des mutants *amber* du bactériophage T_4 qui affectent la structure de plusieurs protéines. Les auteurs ont utilisé 10 mutants localisés dans le cistron *am* B 17 qui contrôle une protéine particulière de la tête du bactériophage. On sait que plus de 50 p. 100 des protéines synthétisées au cours de la multiplication de T_4 dans *E. coli* sont incorporées dans la tête des bactériophages. Ces protéines peuvent être marquées à l'aide d'acides aminés radioactifs puis dégradées en peptides sous l'effet de la trypsine ou de la chymotrypsine. Ces peptides radioactifs sont identifiables par leur mobilité caractéristique en électrophorèse sur papier.

On constate que certains peptides, présents dans le type sauvage T_4, manquent dans les mutants *amber*. Chaque mutant est caractérisé par l'absence d'un ou plusieurs peptides.

La protéine correspondant au cistron *am* B 17 comporte 8 peptides après dégradation. Les mutants synthétisent entre 1 et 8 peptides qu'il est possible d'ordonner selon une séquence linéaire unique. La figure 27 montre la relation entre la position des sites altérés de chaque mutant sur la carte génétique et le fragment polypeptidique produit. Il existe une colinéarité parfaite.

Il est à noter que ces mutants *amber*, qui synthétisent des protéines incomplètes, ont été induits par le 5-bromouracile, la 2-amino purine et l'hydroxylamine, tous agents qui sont supposés ne provoquer que de transitions de bases. Le codon altéré représente dans tous les cas un point d'arrêt pour la synthèse de la chaîne polypeptidique. Il est probable que le codon issu de la mutation est dépourvu de sens (ne spécifie aucun acide aminé) ou signifie « fin de chaîne ». La synthèse ne reprend pas au-delà.

d) *Altérations des protéines chez les mutants induits par les acridines*

Nous avons déjà indiqué les raisons pour lesquelles les mutations r_{II} de T_4, induites par les acridines, correspondent sans doute à des pertes ou des additions de bases qui entraînent de profondes pertubations dans la biosynthèse des protéines.

Les recherches de DINTZIS (36) sur l'hémoglobine et celles de SARABHAI et *al.* (109) sur les protéines de la tête du bactériophage T_4 nous ont montré que la biosynthèse des protéines était un processus polarisé, les acides aminés étant attachés successivement à la chaîne polypeptidique à partir de son extrémité $—NH_2$.

Dans ces conditions, on a toutes raisons de penser que la synthèse de l'ARN messager est aussi un processus orienté, commençant à l'une des extrémités de la double hélice d'ADN du gène, pour se terminer à l'autre. La séquence des bases serait donc lue, par groupes de trois (codons) à partir d'un certain point de départ fixe. Considérons dès lors la séquence :

→

ABC ABC ABB ABC

1 2 3 4 5

où n'interviennent que les 3 bases A, B, C. Si le codon ABC spécifie arginine, la séquence codera pour un polypeptide :

arginine—arginine—arginine—arginine—...

Supposons maintenant qu'une substitution (B remplacé par C) affecte le triplet n° 3. Si le nouveau codon ACC code pour la lysine, nous aurons le polypeptide :

arginine—arginine—lysine—arginine—...

où un seul acide aminé a changé.

Si, par contre, il se produit une délétion de la base C du 2ᵉ codon, la séquence devient :

→

ABC ABA BCA BC..........

1 2 3 4

et l'on constate que tous les codons situés à droite de la délétion vont être lus de travers sous la forme BCA.

Les conséquences sont du même ordre pour l'addition d'une base. Ainsi :

→

ABC AAB CAB CAB C....

1 2 3 4 5

On conçoit dès lors que la perte ou l'addition d'une base puisse, dans un tel système, bouleverser profondément la biosynthèse du polypeptide. En admettant que les nouveaux codons situés à droite aient un sens, le polypeptide différera de celui de départ par de nombreux acides aminés. D'autre part, il n'est pas exclu que certains des nouveaux codons n'aient pas de sens et que, par conséquent, le polypeptide ne soit pas synthétisé.

Crick et *al.* (32) ont montré que les mutants r_{II} induits par les acridines étaient en général capables de réversion vers le type sauvage (r^+). Cela peut s'expliquer par l'insertion d'une base supplémentaire lorsque la mutation est une délétion, ou le retrait d'une base quand il s'agit d'une addition. Ce retrait ou cette addition peuvent se produire à l'endroit exact de l'erreur initiale ou encore en un point très proche. Ainsi, considérons à nouveau la séquence :

→

ABC ABA BCA BC........

1 2 3 4

qui présente une délétion de la base C du deuxième triplet et supposons que l'on introduise une base supplémentaire à proximité, vers la droite, soit Z. La séquence devient :

→

ABC ABA ZBC ABC.........

7 2 3 4

Dans ces conditions, les triplets 2 et 3 restent aberrants, mais tous les triplets à partir de 4 sont lus de façon correcte ABC. Dès lors, à condition que 2 et 3 ne soient pas dépourvus de sens, une chaîne polypeptidique sera synthétisée, qui ne différera de celle du type sauvage que par le remplacement des acides aminés 2 et 3. Il se peut que cette chaîne soit fonctionnelle et le phénotype (r^+) est alors restauré. Il ne s'agit pas d'une réversion vraie, mais d'une mutation du type suppresseur.

Comme nous l'avons déjà indiqué (fig. 23), il est aisé de déterminer si une réversion (r^+) est bien due à un suppresseur intragénique. Il suffit de la croiser avec le type sauvage de départ. On doit alors observer, dans la descendance, une certaine proportion de mutants r_{II}, résultant d'échanges génétiques dans la région située entre les sites de la mutation initiale et du suppresseur. C'est bien ce que l'on observe en général. Au surplus, les pseudo-réversions peuvent souvent être distinguées du véritable type sauvage par l'aspect de leurs plages de lyse qui sont légèrement différentes.

Si l'on analyse les mutants r_{II} rencontrés dans la descendance du croisement (Type sauvage × Pseudo-réversion), on s'aperçoit qu'ils appartiennent à deux catégories génétiques distinctes qui peuvent se définir comme suit :

r_{II} (catégorie 1) × r_{II} (mutant initial)

↓

aucun recombinant sauvage, donc les sites sont identiques

r_{II} (catégorie 2) × r_{II} (mutant initial)

↓

recombinants (r^+), donc les sites sont différents.

Par conséquent les mutants de la catégorie 2 ne sont autres que les suppresseurs isolés qui se traduisent eux-aussi par un phénotype mutant r_{II}. On voit donc que, dans ce cas, deux mutants r_{II} distincts, localisés dans un même chromosome, coopèrent pour restaurer un phénotype pseudo sauvage.

Une fois que les suppresseurs ont été ainsi isolés, sous la forme de nouveaux mutants r_{II}, on peut les traiter comme tels et chercher à en obtenir des réversions. Cela est tout à fait possible et l'on constate qu'il s'agit à nouveau de pseudo-réversions associées à des suppresseurs intragéniques, Nous avons alors affaire, bien entendu, à des suppresseurs de supresseurs (ou suppresseurs de 2^e^ ordre). Si on les isole, on trouve qu'ils ont le phénotype r_{II}. Le processus peut être recommencé, ces suppresseurs de 2^{e} ordre pouvant être réversés sous l'action de suppresseurs du 3^{e} ordre qui ont eux aussi le phénotype r_{II}.

Si l'on part d'un mutant r_{II} dont on connaît la localisation, on constate que les suppresseurs de 1er ordre sont localisés dans le même cistron, de part et d'autre du site mutant initial. Les suppresseurs de 2^{e} ordre et de 3^{e} ordre sont également localisés dans le cistron.

Si nous supposons que le mutant initial r_{II} résulte de la délétion d'une paire de bases, nous pouvons lui attribuer un signe (—). Selon les hypothèses faites plus haut, la réversion s'explique par l'insertion d'une paire de bases supplémentaire dans la double hélice d'ADN constituant le gène, à proximité de la délétion initiale. C'est dire que les suppresseurs de 1er ordre possèdent le signe (+). De même, les suppresseurs de 2^{e} ordre seront (—) et ceux de 3^{e} ordre (+).

Nous avons imaginé arbitrairement que le mutant r_{II} initial avait perdu une paire de bases et était de signe (−). On aurait pu tout aussi bien supposer qu'il avait une paire de bases supplémentaire et était de signe (+). Le seul point réellement essentiel est qu'un mutant et son suppresseur, doivent, d'après la théorie, avoir des signes opposés.

Parmi les suppresseurs de 1^{er}, 2^{e} et 3^{e} ordre obtenus, il en est de signe (+) et d'autres de signe (−). Tous ont le phénotype mutant r_{II}. Quel résultat obtiendra-t-on si l'on associe, dans le même chromosome, deux (+) ou deux (−) ? La théorie indique que le phénotype doit rester r_{II}. C'est bien ce que l'expérience confirme.

D'autre part, si les codons comportent bien trois lettres, on peut s'attendre à ce que l'addition ou la soustraction de 3 paires de bases, dans une région peu étendue du cistron, se traduise par un phénotype pseudo-sauvage (r^+). En effet, reprenons la séquence :

→				
A B C	A B C	A B C	A B C	
1	2	3	4	5

et ajoutons 3 bases quelconques, soient *A*, *B*, *B* :

→					
A B C	A A B	B C B	A B C	A B C	
1	2	3	4	5	6

On voit que les codons 2 et 3 sont aberrants, mais que la séquence recommence à être lue normalement à partir du 4^{e} codon.

Si nous retranchons 3 bases quelconques *A*, *B*, *B* :

→					
A B C	B C A	C A C	A B C	A B C	
1	2	3	4	5	6

Le résultat est le même que précédemment.

Crick et *al.* (32) ont préparé des triples mutants des types (+++) et (−−−) et ont trouvé effectivement que leurs phénotypes étaient pseudo-sauvage. C'est là une vérification initiale des hypothèses faites quant à la nature des mutants acridine et à la structure des codons (3 bases).

Comme nous l'avons vu, avec les quatre lettres A, G, C, T on peut écrire 64 mots de 3 lettres ou codons (fig. 25). Puisqu'il n'existe que 20 acides aminés essentiels, il en résulte que le code est sans doute dégénéré en ce sens qu'un acide aminé peut être codé par plusieurs triplets. Il est probable aussi qu'un certain nombre de ces triplets ne codent pour aucun acide aminé ; on dit que ces codons sont dépourvus de sens, bien qu'en fait il n'est pas exclu qu'ils puissent signifier autre chose, par exemple : début ou fin de chaîne.

Lorsque, dans le système précédent des mutants acridine, nous combinons une mutation (+) avec une mutation (−) en les associant sur le même chromosome, nous savons qu'un phénotype pseudo-sauvage (r^+) est en général restauré. Nous savons aussi qu'entre les deux sites mutants l'ADN comporte une petite séquence aberrante de codons auxquels correspondent, dans la protéine, un nombre identique d'acides aminés nouveaux.

Lorsque l'on examine un grand nombre de ces combinaisons +/−, on en trouve quelques unes qui conservent le phénotype mutant r_{II} et qui ne fabriquent sans doute pas de protéine. L'interprétation de ce phénomène est que la séquence aberrante entre sites mutants comporte un codon dépourvu de sens. La synthèse de la chaîne polypeptidique s'arrête donc à ce niveau.

Si nous considérons la séquence hypothétique :

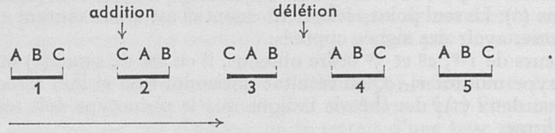
→				
A B C	A B C	A B C	A B C	
1	2	3	4	5

on peut la lire incorrectement de deux façons différentes. Soit en effet le cas d'une addition de base à droite et d'une délétion à gauche :

délétion ↓		addition ↓			
A B C	B C A	B C A	A B C	A B C	
1	2	3	4	5	6
→					

les codons 2 et 3 sont alors lus (BCA).

Si nous prenons la situation inverse, les bases étant soustraites ou ajoutées aux mêmes points, nous avons :



et les codons 2 et 3 sont lus (CAB).

On peut imaginer que l'une des deux séquences, par exemple BAC, a un sens et code pour un acide aminé, alors que l'autre CAB est dépourvu de sens. Donc, dans ce deuxième cas, la protéine n'est pas synthétisée et le phénotype du double mutant $^{+}/^{-}$ reste r_{II}.

CRICK et *al.* ont effectivement trouvé des situations de ce genre. Sachant qu'un triplet dépourvu de sens se trouvait dans l'intervalle entre deux mutations $^{+}$ et $^{-}$, ils ont réussi à l'altérer par mutation, en utilisant des agents mutagènes agissant par substitution de bases (BU, AP, NA). La position exacte de ce codon a pu être fixée.

Sous l'effet de ces mêmes agents mutagènes, il a été possible d'obtenir des mutants r_{II} dont les sites sont localisés à l'extrémité gauche du cistron r_{II}B, point de départ probable pour la transcription par l'ARN messager. Ce résultat est un peu surprenant à première vue parce que l'on sait que

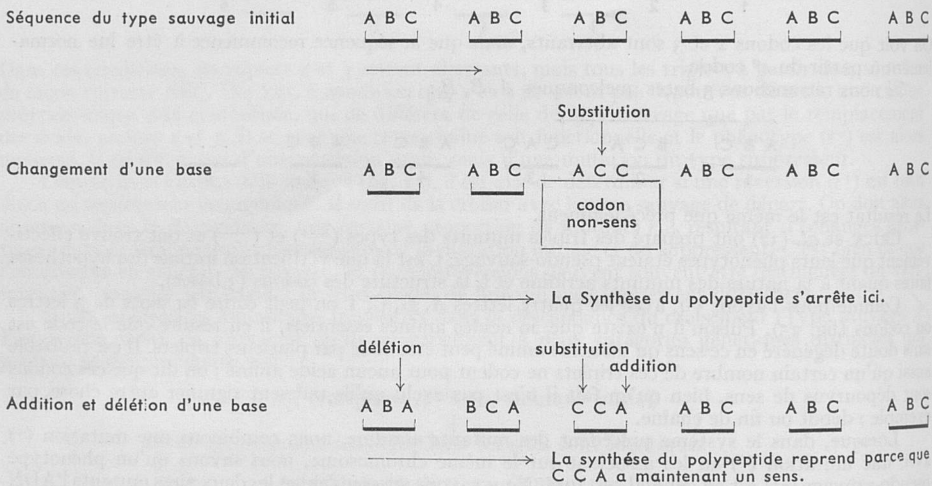


FIG. 28. — *Induction d'un codon non-sens et restaurations de l'activité du gène par décalage du cadre de lecture*

cette région du cistron B n'est pas essentielle et que, d'autre part, BU, AP et NA ne sont pas capables d'induire des additions ou délétions de bases. L'interprétation est qu'un codon dépourvu de sens a été induit et qu'il constitue un point d'arrêt supprimant toute synthèse de la protéine B.

En associant, sur un même chromosome, ce codon à deux mutations induites par les acridines, l'une de signe ($^{+}$), l'autre de signe ($^{-}$) et situées de part et d'autre, le phénotype pseudo-sauvage (r^{+}) a été restauré. Ceci s'interprète par un décalage dans la lecture des bases trois par trois (voir fig. 28).

Nous avons vu que la région r_{II} du bactériophage T_4 comporte deux cistrons adjacents A et B qui sont fonctionnellement indépendants. Une mutation de A quelle qu'elle soit (substitution, délétion ou addition d'une base) laisse B inaffecté et vice versa. Il est donc logique de supposer qu'il existe une sorte de séparation entre les deux cistrons, chacun synthétisant sa propre chaîne polypeptidique.

Or, une mutation r_{II} a été isolée qui correspond à une délétion d'une fraction importante de la partie droite du cistron A et d'une portion plus réduite de la partie gauche du cistron B. Cette délétion (nº 1589) entraîne la perte de la fonction A, mais la fonction B subsiste. La séparation entre les deux cistrons A et B ayant été ainsi éliminée, on peut penser que les deux cistrons A et B ne sont plus indépendants et qu'ils synthétisent *une chaîne polypeptidique unique*. Si cela est vrai on s'attend à ce qu'une mutation du type acridine (par exemple ($^{+}$)) dans A entraîne la perte de la fonction B.

C'est bien ce que l'on observe. Au surplus, la fonction du cistron B peut être restaurée par induction d'un suppresseur de signe (−) dans A (fig. 29).

Ces études réalisées par CRICK et *al.* (32, 33), confirment donc que les codons sont lus les uns après les autres à partir d'un point fixe représentant le début du cistron. Les codons comportent 3 bases et le code est dégénéré. Il existe une séparation (dont la nature n'est pas encore précisée) entre cistrons successifs, assurant que des chaînes polypeptidiques distinctes sont fabriquées.

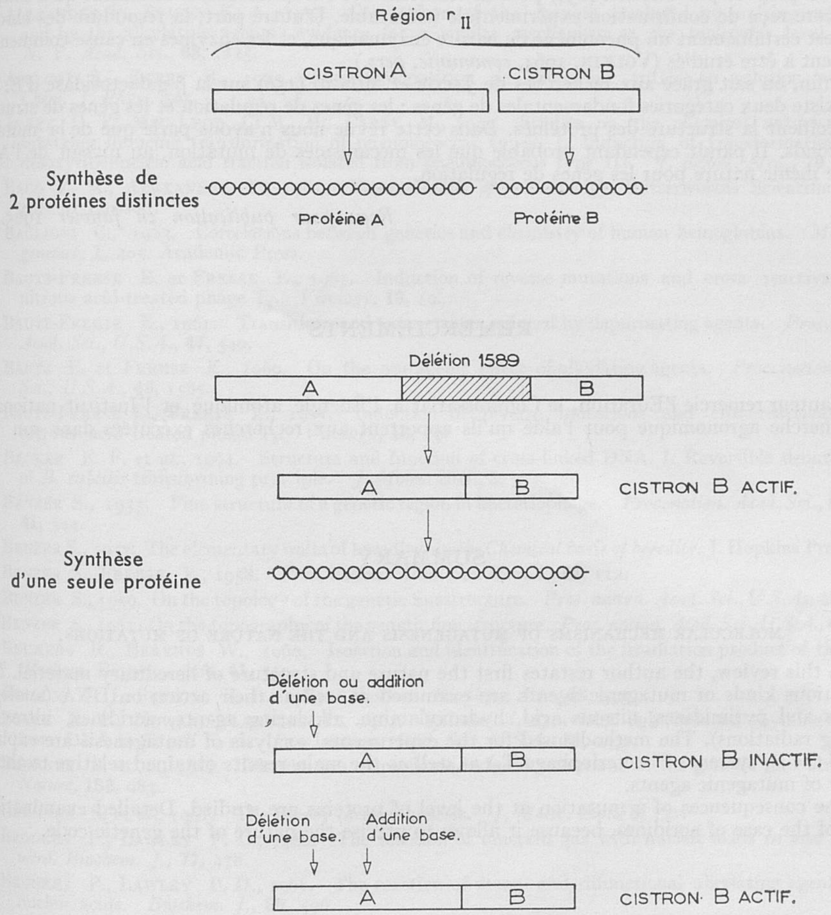


FIG. 29. — *Comportement de la délétion n° 1589 dans la région* r_{II} *du bactériophage* T_4

CONCLUSION

La théorie moléculaire des mutations que nous venons d'exposer, a été proposée sur la base des résultats génétiques obtenus avec un système très particulier, les mutants r_{II} du bactériophage T_4. La question se pose donc de savoir si les phénomènes sont les mêmes pour les organismes supérieurs possédant des chromosomes de structure plus complexe.

Une première réponse à cette question vient d'être fournie par E. J. de SERRES (149). Il a induit chez l'ascomycète *Neurospora*, des mutants *adenineless* rouges appartenant aux deux cistrons adjacents *ad-3A* et *ad-3B*. Les agents mutagènes utilisés ont été l'acide nitreux, la 2-amino purine,

le méthane sulfonate d'éthyle et le diépoxybutane. Il a étudié la complémentation allélique et le degré de blocage de chaque classe de mutant et arrive à la conclusion que NA et AP induisent ici aussi des substitutions de bases.

Nous avons volontairement omis de parler des cassures de chromosomes induites par les rayonnements et certaines substances mutagènes. Ces accidents ont été très étudiés du point de vue cytologique, mais il n'est pas encore possible d'en présenter une théorie moléculaire cohérente. En effet, le modèle proposé par TAYLOR (151) pour la structure des chromosomes, si séduisant qu'il soit, n'a pas encore reçu de confirmation expérimentale irréfutable. D'autre part, la resoudure des chromosomes est certainement un phénomène de nature enzymatique, et les enzymes en cause commencent seulement à être étudiés (VOLKIN, 1964, *communic. pers.*).

Enfin, on sait grâce aux recherches de JACOB et MONOD (150) sur la β-galactosidase d'*E. coli*, qu'il existe deux catégories fondamentales de gènes : les gènes de régulation et les gènes de structure qui spécifient la structure des protéines. Dans cette revue nous n'avons parlé que de la mutation des seconds. Il paraît cependant probable que les mécanismes de mutation, au niveau de l'ADN, sont de même nature pour les gènes de régulation.

Reçu pour publication en janvier 1965.

REMERCIEMENTS

L'auteur remercie l'Euratum, le Commissariat à l'Énergie atomique et l'Institut national de la Recherche agronomique pour l'aide qu'ils apportent aux recherches exécutées dans son laboratoire.

SUMMARY

MOLECULAR MECHANISMS OF MUTAGENESIS AND THE NATURE OF MUTATIONS.

In this review, the author restates first the nature and structure of hereditary material. Next, the various kinds of mutagenic agents are examined as well as their action on DNA (analogs of purines and pyrimidines, nitrous acid, hydroxylamine, alkylating agents, acridines, ultraviolet, ionizing radiations). The methods used for the experimental analysis of mutagenesis are explained (use of the r_{II} system of bacteriophage T_4) as well as the main results obtained relative to the specificity of mutagenic agents.

The consequences of a mutation at the level of proteins are studied. Detailed examination is made of the case of acridines, because it allows to precise the nature of the genetic code.

ZUSAMMENFASSUNG

DIE MOLEKULARTHEORIE DER MUTATIONSGENESE UND DIE NATUR DER MUTATIONEN

In dieser Uebersicht weisst der Verfasser zunächst auf die Natur und die Struktur des Erbmaterials hin. Er untersucht sodann die verschiedenen Mutationsmittel und ihre Wirkung auf das ADN (Analogen zu Purinen und Pyrimidinen, salpetriger Säure, Hydroxylamin, alkylierenden Mitteln, Akridinen, ultravioletten und ionisierenden Strahlungen).

Die zur experimentalen Analyse der Mutationsgenese verwendeten Methoden werden untersucht (Anwendung des σ_{II}. Systems des Bakteriophagen T_4) und die wichtigsten erzielten Ergebnisse bezüglich der spezifischen Eigenschaften der Mittel zur Mutationsauslösung dargelegt.

Die Wirkungen der Mutation hinsichtlich der Proteine werden untersucht, mit besonderer Berücksichtigung der Akridine, welche eine Bestimmung der Natur des Ordnungssystems erlauben.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) Alexander P., 1952. *Nature*, **169**, 226.

(2) Alexander P., Stacey K. A., 1958. Comparison of the changes produced by ionizing radiations and by the alkylating agents : evidence for a similar mechanism at the molecular level. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **68**, 1225.

(3) Apelgot S., Ekert B., 1963. Autodécomposition de thymidine tritiée en solution aqueuse. *Chim. J. Phys.*, 505.

(4) Avery O. T., Mac Leod C. M., Mc Carty M., 1944. Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. I. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type III. *J. Exper. Med.*, **79**, 137.

(5) Bacq Z. M., Alexander P., 1961. *Fundamentals of radiobiology*. Butterworths Scientific publication. London.

(6) Baglioni C., 1963. Correlations between genetics and chemistry of human hemoglobins. *Molecular genetics*, **1**, 405. Academic Press.

(7) Bautz-Freese E. et Freese E., 1961. Induction of reverse mutations and cross reactivation of nitrous acid-treated phage T_4. *Virology*, **13**, 19.

(8) Bautz-Freese E., 1961. Transitions and tranversions induced by depurinating agents. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **47**, 540.

(9) Bautz E. et Freese E., 1960. On the mutagenic effect of alkylating agents. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **46**, 1585.

(10) Bautz-Freese E., Freese E., 1961. Induction of reverse mutations and cross-reactivation of nitrous acid-treated phage T_4. *Virology*, **13**, 19.

(11) Becker E. F. et *al.*, 1964. Structure and function of cross-linked DNA. I. Reversible denaturation of *B. subtilis* transforming principle. *J. Molec. Biol.*, **8**, 377.

(12) Benzer S., 1955. Fine structure of a genetic region in bacteriophage. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **41**, 344.

(13) Benzer S., 1957. The elementary units of heredity. In *the Chemical basis of heredity*. J. Hopkins Press., **70**,

(14) Benzer S., Freese E., 1958. *Proc. nation. Acad. Sci. U.S.A.*, **44**, 112.

(15) Benzer S., 1959. On the topology of the genetic finestructure. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **45**, 1607.

(16) Benzer S., 1961. On the topography of the genetic fine structure. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **47**, 403.

(17) Beukers R., Berends W., 1960. Isolation and identification of the irradiation product of thymine. *Biochem. Biophys. Acta*, **41**, 550.

(18) Bollum F. J., Setlow R. B., 1963. *Biochem. Biophys. Acta*, **68**, 599.

(19) Boyce R. P., Howard-Flanders P., 1964. Release of ultraviolet light-induced thymine dimers from DNA in *E. coli* K-12. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **51**, 293.

(20) Brenner S. et *al.*, 1958. Distribution of proflavin-induced mutations in the genetic fine structure. *Nature*, **182**, 983.

(21) Brenner S. et *al.*, 1961. The theory of mutagenesis. *J. Molec. Biol.*, **3**, 121.

(22) Brookes P., Lawley P. D., 1960. The reaction of mustard gaz with nucleic acids *in vivo* and *in vitro*. *Biochem. J.*, **77**, 478.

(23) Brookes P., Lawley P. D., 1961. The reaction of mono- and difunctional alkylating agents with nucleic acids. *Biochem. J.*, **80**, 496.

(24) Brookes P. et Lawley P. D., 1963. Effect of alkylating agents on T_2 and T_4 bacteriophages. *Biochem. J.*, **89**, 138.

(25) Brookes P., Lawley P. D., 1964. The reaction of some mutagenic and carcinogenic compounds with nucleic acids. *Conference on the molecular action of mutagenic and carcinogenic agents*. Oak Ridge (in press).

(26) Brown D. M., Schell P., 1961. *J. Molec. Biol.*, **3**, 709.

(27) Champe S. P., Benzer S., 1962. An active cistron fragment. *J. Molec. Biol.*, **4**, 288.

(28) Chapeville F. et *al.*, On the role of soluble ribonucleic acid in coding for amino acids. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **48**, 1086.

(29) Clifton C. E., 1931. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **28**, 745.

(30) Conlay J. J., 1963. Effect of ionizing radiation on adenine in aerated and deaerated aqueous solutions. *Nature*, **197**, 555.

(31) Cox R. A. et *al.*, 1955. Effects of γ rays on solutions of sodium deoxyribonucleate — possible chemical mechanisms for their biological effects. *Nature*, **176**, 919.

(32) Crick F. H. C. et *al.*, 1961. General nature of the genetic code for proteins. *Nature*, **192**, 1227.

(33) Crick F. H. C., 1962. The genetic code. *Scientific American*, **207**, 66,

(34) D'Amato F., 1950. *Caryologia*, **2**, 229.

(35) Davison P. F. et *al.*, 1961. The structural University of the DNA of T_2 bacteriophage. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **45**, 1560.

(36) Dintzis H. M., 1961. Assembly of the peptide chains of hemoglobin. *Proc. nation. Acad. Sci. U.S.A.*, **47**, 247.

(37) Doudney C. O., Haas F. L., 1960. Some biochemical aspects of the post-irradiation modification of ultraviolet induced mutation frequency in bacteria. *Genetics*, **45**, 1481.

(38) Doudney C. O., 1961. Nucleic acid formation and ultraviolet light-induced mutation in bacteria: some considerations in light of recent advances. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **58**, suppl. 1, 145.

(39) Dunn D. B., Smith J. D., 1964. *Nature*, **174**, 304.

(40) Eckert B., Monier R., 1959. Structure of thymine hydroperoxyde produced by X-irradiation. *Nature*, **184**, 58.

(41) Eckert B., 1962. Effect of γ-rays on thymine in deaereted aqueous solutions.

(42) Emmorson P. et *al.*, 1960. Chemical effects of ionizing radiations on nucleic acids and nucleoproteins. *Nature*, **187**, 319.

(43) Fraenkel-Conrat H., Williams R. C., 1955. Reconstitution of active tobacco mosaic virus from its inactive protein and nucleic acid components. *Proc. nation. Acad. Sci. U.S.A.*, **41**, 695.

(44) Fraenkel-Conrat H. et *al.*, 1957. Infectivity of viral nucleic acid. *Biochem. Biophys. Acta*, **25**, 87.

(45) Fraenkel-Conrat H., Singer B., 1957. Virus reconstitution : combination of protein and nucleic acid from different strains. *Biochem. Biophys. Acta*, **24**, 541.

(46) Franklin R. E., Gosling R. G., 1953. Molecular configuration in Sodium thymonucleate. *Nature*, **171**, 740.

(47) Freese E., 1959. The difference between spontaneous and base-analogue induced mutations in phage T_4. *Proc. nation. Acad. Sci. U.S.A.*, **45**, 622.

(48) Freese E., 1959. The specific mutagenic effect of base analogues on phage T_4. *J. Molec. Biol.*, **1**, 87.

(49) Freese E., 1959. On the molecular explanation of spontaneous and induced mutations. *Symposia Biol.*, **12**, 63.

(50) Freese E. et *al.*, 1961. The chemical and mutagenic specificity of hydroxylamine. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **47**, 845.

(51) Freese E. et *al.*, 1961. Hydroxylamine as a mutagenic and inactivating agent. *J. Molec. Biol.*, **3**, 133.

(52) Freese E., 1963. Molecular mechanism of mutations. *Molecular Genetics* **1**. Academic Press., 207.

(53) Geiduschek E. P., 1961. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **47**, 950.

(54) Gierer A., Schramm G., 1956. Infectivity of ribonucleic acid from tobacco mosaic virus. *Nature*, **177**, 702.

(55) Gottschling H., Freese E., 1961. *Z. Naturforsch.* **16** *b*, 515.

(56) Gutz H., 1961. Distribution of X-ray and nitrous acid-induced mutations in the genetic fine structure of the ad-7 locus of *Schizosaccharomyces pombe Nature*, **191**, 1124.

(57) Haas F. L., Doudney C. O., 1959. Mutation induction and expression in bacteria. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **45**, 1620.

(58) Hayashi M. et *al.*, 1964. DNA circularity and the mechanism of strand selection in the generation of genetic messages. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **51**, 351.

(59) Hayes W., 1964. *The Genetics of bacteria and their viruses*. Blackwell Scientific publications. Oxford.

(60) Helinski D. R., Yarrofsky C., 1962. Correspondance between genetic data and the position of aminoacid alteration in a protein. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **48**, 173.

(61) Hems G., 1958. Effects of ionizing radiation on aqueous solutions of guanylic acid and guanosine, *Nature*, **181**, 1721.

(62) Hems G., 1960. Effect of ionizing radiations on aqueous solutions of inosine and adenosine. *Radiation Research*, **13**, 777.

(63) Hems G., 1960. Chemical effects of ionizing radiations on desoxyribonucleic acid in dilute aqueous solution. *Nature*, **186**, 710.

(64) Hershey A. D., Chase M., 1952. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *J. Gen. Physiol.*, **36**, 39.

(65) Heslot H., 1958. Contribution à l'étude cytogénétique et génétique des Sordariacées. *C. R. Acad. Sci.*, 242, 1809.

(66) Heslot H. et *al.*, 1959. Recherches sur les substances mutagènes (halogéno-2-éthyle)amines, dérivés oxygénés du sulfure de bois (chloro-2-éthyle), esters sulfoniques et sulfuriques. *C. R. Acad., Sci., Fr.*, **248**, 729.

(67) Heslot H., 1960. Induction de mutations chez les plantes cultivées. Recherches effectuées par quelques agronomes français. *Genetica Agraria*, **13**, 79.

(68) Heslot H. et *al.*, 1960. Induction de mutations chez l'orge. Efficacité relative des rayons gamma du sulfate d'éthyle, du méthane sulfonate d'éthyle et de quelques autres substances. Sympos. effets rayonnements ionisants sur les semences. Karlsruhe. IAEA/FAO, 243.

(69) HESLOT H., 1962. Étude quantitative de réversions biochimiques induites chez la levure *Schizosaccharomyces pombe* par des radiations et des substances radiominétriques. *Abhandl. Deutsch. Akad. Wiss. Berlin,* 193.

(70) HIATT C. W., 1960. *Trans. N. Y. Acad. Sci. U. S.*, **46**, 57.

(71) HURWITZ J. et *al.*, 1961. The enzymatic incorporation of ribonucleotides into RNA and the role of DNA. *Cold Spring. Harb. Symp. quant. Biol.*, **26**, 91.

(72) INGRAM V. M., 1957. Gene mutation in human hemoglobin ; the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature,* **180**, 326.

(73) JOSSE J. et *al.*, 1961. Enzymatic synthesis of ribonucelic acid. VIII. Frequencies of nearest neighbor base sequences in deoxyribonucleic acid. *J. Biol. Chem.*, **236**, 864.

(74) KAUDEWITZ F., 1959. Production of bacterial mutants with nitrous acid. *Nature,* **83**, 1829.

(75) KAUDEWITZ F., 1959. Inaktivierende und mutagene Wirkung salpetriger Säure auf Zellen von Escherichia *coli*. *Z. Naturforsch.*, **146**, 528.

(76) KAUFMAN E., HIATT C. W., 1959. *Virology,* **9**, 478.

(77) KENDREW J. C., PERUTZ M. F., 1957. *Ann. Rev. Biochem.*, **26**, 327.

(78) KRIEG D. R., 1963. EMS induced reversion of bacteriophage T_4 r_{II} mutants. *Genetics,* **48**, 561.

(79) LATARJET R. et *al.*, 1961. Études radiobiochimiques sur l'ADN. *J. Chim. Phys.*, 1046.

(80) LATARJET R. et *al.*, 1963. Peroxidation of nucleic acids by radiation : biological implications.

(81) LAURENCE D. J. R., 1963. Chain breakage of DNA following treatment with low doses of sulfur mustard. *Proc. Roy. Soc.* A **271**, 520.

(82) LAWLEY P. O. BROOKES P., 1961. Acidic dissociation of 7 : 9-dialkyl guanines and its possible relation to mutagenic properties of alkylating agents. *Nature,* **192**, 1081.

(83) LAWLEY P. D., BROOKES P., 1963. Further studies on the alkylation of nucleic acids and their constituent nucleotides. *Biochem. J.*, **89**, 127.

(84) LERMAN L. S., 1961. Structural considerations on the interaction of DNA and acridines. *J. Molec. Biol.*, **3**, 18.

(85) LERMAN L. S., 1963. The structure of the DNA acridine complex. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **49**, 94.

(86) LERMAN L. S., 1964. Acridine mutagens and DNA structure. *Conference on the molecular action of mutagenic and carcinogenic agents.* Oak Ridge (in press).

(87) LETT J. T. et *al.*, 1962. *Arch. Biochem. Biophys.*

(88) LITMAN R., EPHRUSSI TAYLOR H., 1959. Inactivation et mutation des facteurs génétiques de l'acide désoxyribonucléique du pneumocoque par l'UV et par l'acide nitreux. *C. R. Acad. Sci., Fr.,* **249**, 838.

(89) LITMAN R. M., PARDEE A. B., 1960. *Biochem. Biophys. Acta,* **42**, 117, 131.

(90) LOVELESS A., 1958. Increased rate of plaque-type and host-range mutation following treatment of bacteriophage *in vitro* with ethyl methane sulfonate. *Nature,* **191**, 1212.

(91) LOVELESS A., HOWARTH S., 1959. Mutation of bacteria at high levels of survival by ethyl methane sulfonate. *Nature,* **184**, 1780.

(92) LOVELESS A., STOCK J. C., 1959. Nature of the inactivation of T_2 phage *in vitro* by certain alkylating agents. *Proc. Roy. Soc.*, **B. 150**, 423.

(93) LUZZATI V. et *al.*, 1961. Interaction of DNA and proflavine : a small-angle X-ray scattering study. *J. Molec. Biol.*, **3**, 634.

(94) MARMUR J. et *al.*, 1961. The effects of ultraviolet light on the biological and physical chemical properties of deoxyribonucleic acids. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **58**, (suppl. 1), 33.

(95) MESLSON M., STAHL F. W., 1958 *a*. The replication of DNA in *Escherichia coli*. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **44**, 671.

(96) MESELSON M., STAHL F. W., 1958 *b*. The replication of DNA. *Cold Spring. Harb. Symp. quant. Biol.*, **23**, 9.

(97) MUNDRY K. W., GIERER A., 1958. Die Erzeugung von mutationen des Tabakmosaik-virus durch chemische Behandlung seiner Nukleinsäure *in vitro*. *Z. Vererbungslehre,* **89**, 614.

(98) NAGATA C. et *al.*, 1963. Changes ofπ-electron distribution of DNA after alkylation and their possible relation to the biological effect. *Gann,* **54**, 109.

(99) NIRENBERG M. W., 1963. The genetic code II. *Scientific American,* **208**, 80.

(100) PRICE C. C., 1958. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **68**, 663.

(101) REINER B., ZAMENHOF S., 1957. *J. Biol. Chem.*, **228**, 475.

(102) ROSS W. J. C., 1958. *In vitro* reactions of biological alkylating agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **68**, 669.

(103) ROSS W. J. C., 1953. The chemistry of cytoloxic alkylating agents. *Advances Cancer Res.*, **1**, 397

(104) RUBENSTEIN L. et *al.*, 1961. The molecular weights of T_2 bacteriophage DNA and its first and second breakage products. *Proc. nation. Acad. Sci. U.S.A.*, **47**, 1113.

(105) RUDNER R., 1961. Mutation as an error in base pairing. *Z. Vererbungslehre,* **92**, 336 et 361.

(106) RUPERT C. S., 1961. Repair of ultraviolet damage in cellular DNA. *J. Cell. Comp. Physiol.*, 58 (suppl. 1), 57.

(107) SANGER F., 1956. *Currents in Biochemical Research.* Interscience Publishers. New York.

(108) SARABHAI A. S. et *al.*, 1964. Co-linearity of the gene with the polypeptide chain. *Nature*, **201**, 4914, 13-17.

(109) SCHOLES G. et *al.*, 1949. Action of X-rays on nucleic acids. *Nature*, **164**, 709.

(110) SCHOLES G., WEISS J., 1950. Chemical action of ionizing radiations on nucleic acids in aqueous systems. *Nature*, **166**, 640.

(111) SCHOLES G., WEISS J., 1952. Chemical action of X-rays on nucleic acids in aqueous systems. *Exper. Cell. Res.* (suppl. 2), 219.

(112) SCHOLES G. et *al.*, 1956. Formation of hydroperoxides from nucleic acids by irradiation with X-rays in aqueous systems. *Nature*, **178**, 157.

(113) SCHOLES G., WEISS J., 1960. Organic hydroxy-hydro-peroxydes : a class of hydroperoxydes formed under the influence of ionizing radiations. *Nature*, **185**, 305.

(114) SCHOLES G. et *al.*, 1960. Mecanism of the radiation-induced degradation of nucleic acids. *J. Molec. Biol.*, **2**, 379.

(115) SCHOLES G., WEISS J. J., 1962. Effects of ionizing radiations on nucleic acids and nucleoproteins. *Abhandl. Deutsch. Akad. Wiss. Berlin*, **1**, 94.

(116) SETLOW R. B. et *al.*, 1963. *Science*, **142**, 1464.

(117) SETLOW R. B., CARRIER W. L., 1964. The disappearance of thymine dimers from DNA : an error correc- ting mechanism. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **51**, 226.

(118) SHUGAR O., 1960. Photochemistry of nucleic acids and their constituents. In *The nucleic acids.*, 39. Academic Press.

(119) STACEY K. A. et *al.*, 1958. The reaction of the radiomimetic alkylating agents with macromolecules *in vitro*. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **68**, 682.

(120) STENT G. S. *Molecular biology of bacterial viruses.* W. H. Freeman and Co. San Francisco-London.

(121) SZYBALSKI W., DJORDJEVIC B., 1959. *Genetics*, **44**, 540.

(122) TAYLOR J. H., 1957. The time and mode of duplication of chromosomes. *Amer. Naturalist.*, **91**, 209.

(123) TAYLOR J. H. et *al.*, 1957. The organisation and duplication of chromosomes as revealed by autoradiograph studies using tritium-labelled thymidine. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **43**, 122.

(124) TESSMAN I., 1959. Mutagenesis in phage $\varphi \times 174$ and T_4 and properties of the genetic material. *Virology*, **9**, 375.

(125) TRAUTNER T. A. et *al.*, 1962. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. Influence of bromouracil substitutions on replication. *Proc. Nation. Acad. Sci., Wash.*, **48**, 449.

(126) TSUGITA A., FRAENKEL-CONRAT H., 1960. The amino acid composition and C-terminal sequence of a chemically evoked mutant of TMV. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **46**, 636.

(127) TSUGITA A., FRAENKEL-CONRAT H., 1962. The composition of proteins of chemically evoked mutants of TMV-RNA. *J. Molec. Biol.*, **4**, 73.

(128) VIELMETTER W., SCHUSTER H., 1960. The base specifity of mutation induced by nitrous acid in phage T_2. *Biochem. Biophys. res. Comm.*, **2**, 324.

(129) WACKER A. et *al.*, 1960. Strahlenchemische Veränderung der Bakterien-Desoxyribonucleinsäure *in vivo*. *Naturwissenschaften*, **11** *b*, 7.

(130) WACKER A. et *al.*, 1960. Über den Einbau Purin-analoger Verbindungen in die Bakterien-Nukleinsäure. *J. Molec. Biol.*, **2**, 241.

(131) WACKER A., et *al.* 1962. *J. Molec. Biol.*, **4**, 410.

(132) WACKER A., 1963. *Molecular mechanisms of radiations effects in Progress in nucleic acid research*, vol. I, 369.

(133) WARD J. F., 1959. *Action of radiation produced radicals on nucleic acids and related compounds.* Ph. D. Thesis University of Durham.

(134) WATSON J. D., CRICK F. H. C., 1953 *a*. The structure of DNA. *Cold Spring. Harb. Symp. quant. Biol.*, **18**, 123.

(135) WATSON J. D., CRICK F. H. C., 1953 *b*. Genetic implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature*, **171**, 964.

(136) WEISS S. B., NAKAMOTO T., 1961. On the participation of DNA in RNA biosynthesis. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **47**, 694.

(137) WEYGAND F., WACKER A., DELLWEG E., 1952. Stoffwechseluntersuchungen bei Mikro-organismen mit Hilfe radioaktiver Isotope. II. *Z. Naturforsch.*, **7 B**, 19.

(138) WILKINS M. F. H., RANDALL J. T., 1953. Crystallinity in sperm heads : molecular structure of nucleoprotein *in vivo*. *Biochem. biophys. Acta.*, **10**, 192.

(139) WILKINS M. F. H., STOKES A. R., WILSON H. R., 1953. Molecular structure of deoxypentose nucleic acids. *Nature*, **171**, 738.

(140) WITKIN E. M., 1956. Time, temperature and protein synthesis : a study of ultraviolet-induced mutation in bacteria. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, **21**, 123.

(141) WITKIN E. M., 1958. Post-metabolism and the timing of ultraviolet induced mutations in bacteria. *Proc. X Intern. Congr. Genetics*, **1**, 280.

(142) WITKIN E. M., THEIL E. C., 1960. The effect of post-treatment with chloramphenicol in various ultraviolet induced mutations in *Escherichia coli*. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **46**, 226.

(143) WITTMAN H. G., 1962. Protein untersuchungen an Mutanten des Tabakmosaikvirus als Beitrag zum Problems des genetischen Codes. *Z. Vererb. Lehre*, **93**, 491.

(144) YAMAMOTO N., 1958. *J. Bacteriol.*, **75**, 443.

(145) YANOSFKY C. et *al.*, 1961. The effect of mutation on the composition and properties of the A protein of *Escherichia coli* tryptophan synthetase. *Cold Spring. Harbour. Symp.*, **26**, II.

(146) YANOFSKY C. et *al.*, 1964. On the colinearity of gene structure and protein structure. *Proc. nation. Acad. Sci., U.S.A.*, **51**, 266.

(147) YANOFSKY C. et *al.*, 1963. Mutational alteration of protein structure. *Feder. Proc.*, **22**, 75.

(148) DE SERRES F. J., 1964. *Mutagenesis and chromosome structure.* Conference on the molecular action of mutagenic anc carcinogenic agents. Oak Ridge (in press).

(149) JACOB F., MONOD J., 1961. On the regulation of gene activity. *Cold Spring Harbour. Symp.*, **26**, 193.

(150) TAYLOR H. J., 1963. The replication and organization of DNA in chromosomes. *Molecular Genetics*. Part., I, 64. Academic Press.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (2), 159-181.

SÉLECTION PROGRESSIVE DE VARIABLES UTILISANT LA STATISTIQUE D² DE MAHALANOBIS

APPLICATION A LA DÉTERMINATION DE LA MEILLEURE FONCTION DISCRIMINANTE SÉPARANT DEUX POPULATIONS DE SEMIS DE VIGNE

R. WAGNER

avec la collaboration technique de A. BRONNER

Station de Recherches viticoles et œnologiques,
Centre de Recherches agronomiques d'Alsace, Colmar (Haut-Rhin)

SOMMAIRE

En biologie on est souvent amené à vouloir définir les caractères quantitatifs qui permettent de distinguer d'une façon aussi parfaite que possible deux populations. Dans ce but nous avons utilisé les statistiques D^2 de MAHALANOBIS et Δ^2 de REYMENT pour déteıminer objectivement les sous-ensembles de k mesures les plus efficaces, parmi l'ensemble de K mesures réalisées. Les tests disponibles permettent de déterminer le nombre de mesures à retenir. Leur nature est fixée grâce à une méthode de sélection progressive (*forward selection*).

Cette analyse est appliquée à deux populations de vigne obtenues par autofécondation. Les valeurs de D^2 et Δ^2 sont calculées au moyen d'un programme Fortran dont les possibilités sont données en annexe.

INTRODUCTION

En biologie on est souvent amené à vouloir définir les caractères quantitatifs qui permettent de distinguer d'une façon aussi parfaite que possible deux populations. Dans ce but on choisit au hasard dans chacune d'entre elles un échantillon d'individus sur lesquels on effectue un ensemble de K mesures. Les mensurations retenues sont telles qu'elles permettent de définir les individus le plus objectivement et le plus complètement possible. Leur nature, suggérée par l'observation reste cependant soumise à des considérations biologiques ou pratiques relatives aux tech-

niques de mesure elles-mêmes. Le problème qui préoccupe le biologiste à ce stade est de déterminer la fonction de k mesures parmi les K retenues permettant de différencier statistiquement de la manière la plus efficace les deux échantillons. D'une façon plus analytique, on désire connaître simultanément :

le nombre minimun de mesures à retenir,
leur nature,
les paramètres de la fonction discriminante qui les relie.

Ces éléments permettent ensuite au biologiste de répartir statistiquement les individus appartenant à des échantillons non définis dans l'une ou l'autre des populations.

Nous présenterons d'abord la méthode de sélection des variables que nous avons utilisée, puis nous appliquerons celle-ci à la comparaison de deux populations de feuilles de vigne.

MÉTHODE D'ÉTUDE

Nous distinguerons deux aspects dans cette méthode :

— un aspect statistique relatif au critère de sélection utilisé et à l'établissement de la fonction discriminante,

— un aspect méthodologique qui concerne le procédé de sélection des variables.

I. *Critère statistique de sélection*

Après avoir défini et donné quelques propriétés de D^2, puis de la fonction discriminante de FISHER, nous étudierons quelles sont les conditions d'emploi de ces outils statistiques. Ce qui nous conduira à envisager l'utilisation du critère Δ^2 (REYMENT 1962)

1. *La statistique* D^2 *de* MAHALANOBIS (1936).

Pour une combinaison de k variables le critère statistique d'efficacité retenu pour distinguer les deux populations a été la distance statistique au sens de MAHALANOBIS (D^2).

Soient — N_1 et N_2 les effectifs des échantillons 1 et 2 tirés au hasard des populations P_1 et P_2.

— x_{i1t}, x_{i2t}, x_{j1t}, x_{j2t} les valeurs des mesures i et j effectuées sur le t^{ieme} individu des échantillons 1 et 2.

— $\bar{x}_{i1}$, $\bar{x}_{i2}$, $\bar{x}_{j1}$, $\bar{x}_{j2}$ les valeurs moyennes de ces mesures i et j pour chaque population.

Le D^2 de MAHALANOBIS est ainsi défini (RAO 1952) :

$$D^2_{(k)} = \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{k} W^{ij} d_i d_j \tag{1}$$

avec :

$$d_i = \bar{x}_{i1} - \bar{x}_{i2}$$
$$d_j = \bar{x}_{j1} - \bar{x}_{j2}$$

et $$W_{ij} = \frac{\sum_{t=1}^{N_1} (x_{i1t} - \bar{x}_{i1})(x_{j1t} - \bar{x}_{j1}) + \sum_{t=1}^{N_2} (x_{i2t} - \bar{x}_{i2})(x_{j2t} - \bar{x}_{j2})}{N_1 + N_2 - 2}$$

W^{ij} étant le terme de la matrice inverse de $[W_{ij}]$.

Nota : L'indice k dans l'expression $D^2_{(k)}$ correspond au nombre de variables considérées.

On peut encore écrire :

$$D^2 = \boldsymbol{d}\mathbf{W}^{-1}\boldsymbol{d}' \tag{2}$$

si

$$\boldsymbol{d} = [d_1 \cdots d_2 \cdots d_k]$$

$$\boldsymbol{d}', \text{ transformée de } \boldsymbol{d}$$

$$\mathbf{W} = [\mathrm{W}_{ij}].$$

Le critère de sélection ainsi défini présente les avantages suivants :

a) *D^2 est indépendant de l'ordre des* k *variables considérées :*

En effet, considérons deux variables voisines quelconques i et j.

$$D^2 = \left[\boldsymbol{v}_1 \;\vdots\; d_i \; d_j \;\vdots\; \boldsymbol{v}_2\right] \begin{bmatrix} \mathbf{W}_{11} & \vdots & \mathbf{W}_{1i} & \mathbf{W}_{1j} & \vdots & \mathbf{W}_{12} \\ \cdots & \vdots & \cdots & \cdots & \vdots & \cdots \\ \mathbf{W}_{i1} & \vdots & w_{ii} & w_{ij} & \vdots & \mathbf{W}_{i2} \\ \mathbf{W}_{j1} & \vdots & w_{ji} & w_{jj} & \vdots & \mathbf{W}_{j2} \\ \cdots & \vdots & \cdots & \cdots & \vdots & \cdots \\ \mathbf{W}_{21} & \vdots & \mathbf{W}_{2i} & \mathbf{W}_{2j} & \vdots & \mathbf{W}_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \boldsymbol{v}_1 \\ \cdots \\ d_i \\ d_j \\ \cdots \\ \boldsymbol{v}_2 \end{bmatrix} \tag{3}$$

où

$$\boldsymbol{v}_1 = [d_1 \; d_2 \cdots\cdots d_{i-1}]$$

$$\boldsymbol{v}_2 = [d_{j+1} \; d_{j+2} \cdots\cdots d_k]$$

$$\mathbf{W}_{11} = \begin{bmatrix} w_{1,1} & w_{1,2} & \cdots & w_{1,i-1} \\ w_{2,1} & w_{2,2} & \cdots & w_{2,i-1} \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ w_{i-1,1} & w_{i-1,2} & \cdots & w_{i-1,i-1} \end{bmatrix} \qquad \mathbf{W}_{21} = \begin{bmatrix} w_{j+1,1} & \cdots & w_{j+1,i-1} \\ \vdots & & \vdots \\ w_{k,1} & \cdots & w_{k,i-1} \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{W}_{i1} = [w_{i,1} \; w_{i,2} \cdots\cdots w_{i,i-1}] \qquad \text{etc...}$$

en développant (3) selon les partitions indiquées nous trouvons :

$$\begin{aligned} D^2 = \boldsymbol{v}_1 \mathbf{W}_{11} \boldsymbol{v}'_1 + [d_i \; d_j] \begin{bmatrix} \mathbf{W}_{i1} \\ \mathbf{W}_{j1} \end{bmatrix} \boldsymbol{v}'_1 + \boldsymbol{v}_2 \mathbf{W}_{21} \boldsymbol{v}'_1 \\ + \boldsymbol{v}_1 [\mathbf{W}_{1i} \; \mathbf{W}_{1j}] \begin{bmatrix} d_i \\ d_j \end{bmatrix} + [d_i d_j] \begin{bmatrix} w_{ii} & w_{ij} \\ w_{ji} & w_{jj} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} d_i \\ d_j \end{bmatrix} + \boldsymbol{v}_2 [\mathbf{W}_{2i} \; \mathbf{W}_{2j}] \begin{bmatrix} d_i \\ d_j \end{bmatrix} \\ + \boldsymbol{v}_1 \mathbf{W}_{12} \boldsymbol{v}'_2 + [d_i \; d_j] \begin{bmatrix} \mathbf{W}_{i2} \\ \mathbf{W}_{j2} \end{bmatrix} \boldsymbol{v}'_2 + \boldsymbol{v}_2 \mathbf{W}_{22} \boldsymbol{v}'_2 \end{aligned}$$

Cette expression est symétrique par rapport à i et j, une permutation entre i et j ne changera donc pas la valeur de D^2. Il est facile de montrer ensuite que D^2 est indépendant de l'ordre des variables. On voit en outre que le raisonnement est généralisable à toutes les formes quadratiques.

b) *Des tests sont réalisables permettant d'exprimer :*

— l'efficacité statistique globale propre à chaque combinaison d'une part.
— la contribution propre à chaque variable parmi l'ensemble de mesures considérées d'autre part.

1. Test de l'efficacité statistique globale propre à une certaine combinaison de k variables : Rao (1952) démontre que la variable aléatoire définie par

$$\frac{N_1 N_2 \,(N_1 + N_2 - k - 1)}{k(N_1 + N_2)\,(N_1 + N_2 - 2)} \, D^2_{(k)} \tag{4}$$

est distribuée suivant une loi F ayant pour degrés de liberté k et $(N_1 + N_2 - k - 1)$,

divisons (4) numérateur et dénominateur par $(N_1 N_2)^2$ et posons

$$\frac{1}{N} = \frac{1}{2}\left(\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2}\right)$$

(4) devient

$$\frac{\dfrac{2}{N} - \dfrac{k+1}{N_1 N_2}}{\dfrac{4k}{N}\left(\dfrac{1}{N} - \dfrac{1}{N_1 N_2}\right)} D^2_{(k)} \tag{5}$$

k étant en général de l'ordre de 5 à 6 les termes $\frac{k+1}{N_1 N_2}$ et $\frac{1}{N_1 N_2}$ sont négligeables par rapport à $\frac{1}{N}$ pourvu que N_1 et N_2 soient suffisament grands (supérieurs à 30).

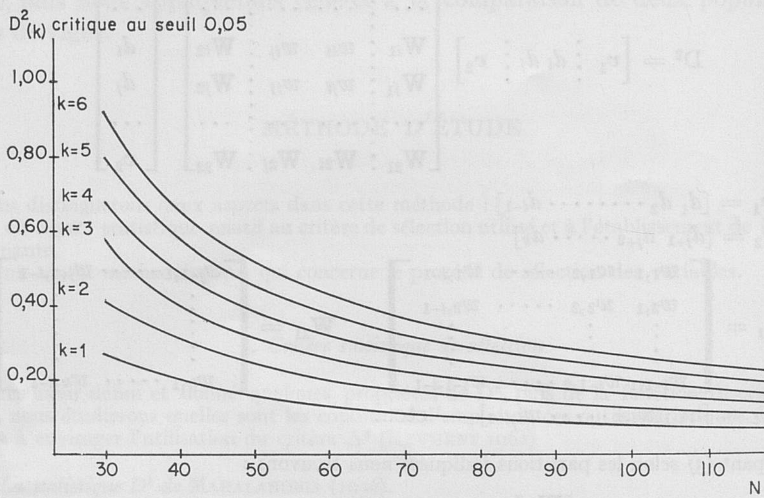


FIG. 1. — *Abaissement du D^2 critique au seuil 0,05 en fonction de N*

En simplifiant (5) dans ce sens on obtient l'expression

$$\frac{N}{2k} D^2_{(k)} \tag{6}$$

A titre indicatif nous avons représenté graphiquement (voir fig. 1 et 2), les variations du $D^2_{(k)}$ critique, aux seuils de probabilité 1 p. 100 et 5 p. 100 en fonction :

— de N ($\geqslant 30$)

— des nombres de variables k les plus courants ;

Il apparaît notamment que, dans le cas d'échantillons de taille inférieure à 50, le seuil de signification n'est obtenu que pour des valeurs élevées de D^2.

2. Test de l'efficacité statistique d'une variable donnée dans une combinaison de k variables.

Ayant obtenu une combinaison efficace de k variables on désire savoir si l'addition de la $(k+1)^{\text{ième}}$ variable est vraiment utile. Or, la variable aléatoire définie par

$$(N_1 + N_2 - k - 2)\left[\frac{1 + \dfrac{N_1 N_2}{(N_1+N_2)(N_1+N_2-2)} D^2_{(k+1)}}{1 + \dfrac{N_1 N_2}{(N_1+N_2)(N_1+N_2-2)} D^2_{(k)}} - 1\right]$$

est distribuée suivant une loi F $(1, N_1 + N_2 - k - 2)$ (RAO, 1952).

L'utilisation de ce 2e test permet de limiter au strict minimum le nombre de variables, tout en sauvegardant l'essentiel de l'information contenue dans l'ensemble des données.

2. *Fonction discriminante.*

Nous nous limiterons ici au cas d'une fonction linéaire. On sait (Fisher, 1936) que le critère D^2 est, à une constante multiplicative près, dépendant des effectifs des deux échantillons, égal à la différence des valeurs moyennes de la fonction discriminante linéaire de R. A. Fisher correspondant aux deux lots. Sous forme matricielle ceci se traduit par la relation :

$$D^2 = \boldsymbol{\alpha}[\mathbf{E}(\boldsymbol{x}_1)]' - \boldsymbol{\alpha}[\mathbf{E}(\boldsymbol{x}_2)]' = \boldsymbol{\alpha}[\mathbf{E}(\boldsymbol{x}_1) - \mathbf{E}(\boldsymbol{x}_2)]' = \boldsymbol{\alpha}\boldsymbol{d}' \tag{7}$$

si $\boldsymbol{\alpha x}'$ désigne la fonction discriminante et si $(\mathbf{E}\boldsymbol{x}_1)$ représente l'ensemble des moyennes de la population 1.

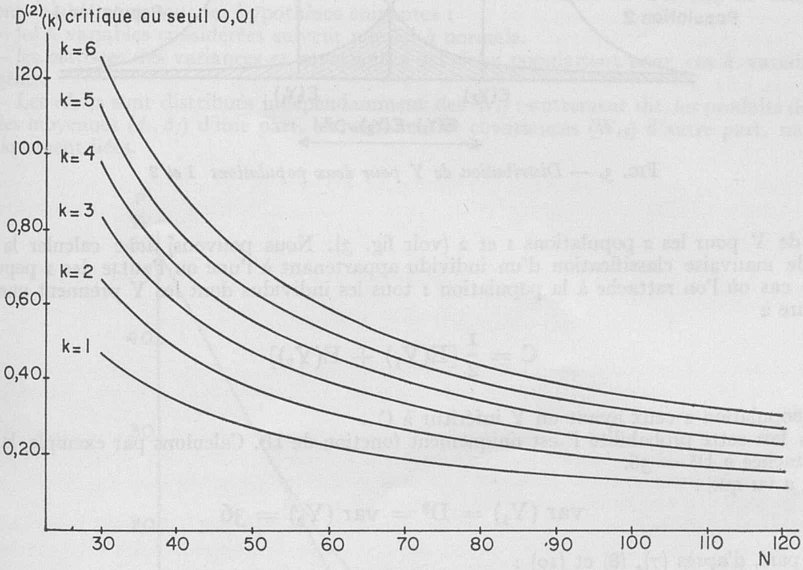


Fig. 2. — *Abaissement du D^2 critique au seuil 0,01 en fonction de N*

Plaçons-nous à l'intérieur de cette population 1, pour un individu t de celle-ci la fonction discriminante $\alpha x'$ prendra la valeur suivante :

$$Y_1 = \boldsymbol{\alpha x}'_1 = \alpha_1 x_{11t} + \alpha_2 x_{21t} + \cdots\cdots + \alpha_i x_{i1t}$$

Les k variables envisagées étant supposées normales la distribution de la variable aléatoire $Y_1 = \boldsymbol{\alpha x}'_1$ sera également une loi normale dont nous allons calculer les paramètres :

$$E(Y_1) = E(\boldsymbol{\alpha x}'_1) = \boldsymbol{\alpha}[\mathbf{E}(\boldsymbol{x}_1)]' \tag{8}$$

$$\text{var}\,(Y_1) = \text{var}\,(\boldsymbol{\alpha x}'_1) = \boldsymbol{\alpha}\ \mathbf{var}\,(\boldsymbol{x}_1)\boldsymbol{\alpha}'$$

or

$$\mathbf{var}\,(\boldsymbol{x}_1) = \mathbf{W}$$

et

$$\boldsymbol{\alpha} = \boldsymbol{d}\,\mathbf{W}^{-1} \qquad \text{d'après (2) et (7)}$$

donc

$$\text{var}\,(Y_1) = \boldsymbol{d} \cdot \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{W} \cdot (\boldsymbol{d}\,\mathbf{W}^{-1})' = \boldsymbol{d} \cdot \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{W} \cdot (\mathbf{W}^{-1})' \cdot \boldsymbol{d}'$$

la matrice $\mathbf{W}$ étant symétrique on a : $(\mathbf{W}^{-1})' = \mathbf{W}^{-1}$ finalement :

$$\text{var}\,(Y_1) = \boldsymbol{d} \cdot \mathbf{W}^{-1} \cdot \boldsymbol{d}' = D^2 \tag{9}$$

de même on aurait en envisageant la population 2

$$E(Y_2) = \alpha \cdot [\mathbf{E}(\boldsymbol{x}_2)]' \tag{10}$$

$$\text{var}\,(Y_2) = D^2 \tag{11}$$

En rapprochant ce résultat donné par DELTEIL et HURON (1959), de la formule (7) : $D^2 = \alpha \cdot d'$ et dans la mesure où les hypothèses de bases pour le calcul de D^2 sont satisfaites, on remarque que la seule connaissance de $E(Y_1)$, $E(Y_2)$ et D^2 nous permettra de tracer les courbes de distri-

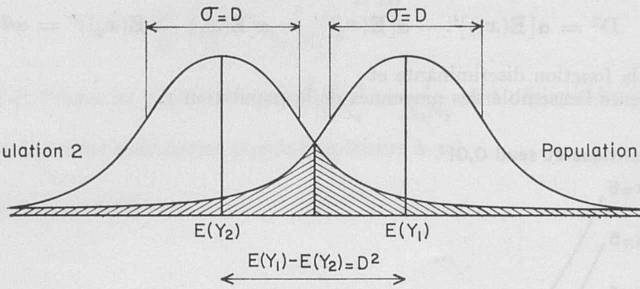


FIG. 3. — *Distribution de Y pour deux populations 1 et 2*

bution de Y pour les 2 populations 1 et 2 (voir fig. 3). Nous pouvons donc calculer la probabilité de mauvaise classification d'un individu appartenant à l'une ou l'autre des 2 populations dans le cas où l'on rattache à la population 1 tous les individus dont les Y prennent une valeur supérieure à

$$C = \frac{1}{2}\,[E(Y_1) + E(Y_2)]$$

et à la population 2 ceux ayant un Y inférieur à C

En fait cette probabilité P est uniquement fonction de D^2. Calculons par exemple, la valeur de P attachée à $D^2 = 36$.

On a vu que :

$$\text{var}\,(Y_1) = D^2 = \text{var}\,(Y_2) = 36$$

d'autre part, d'après (7), (8) et (10) :

$$E(Y_1) - E(Y_2) = D^2 = 36$$

Les deux distributions normales sont donc décalées de 6 écarts-types. Or, dans la courbe de GAUSS, l'aire comprise entre les abscisses -3σ et $+3\sigma$ est de 0.9973, la probabilité P est donc égale à :

$$\frac{1}{2}\,(1 - 0{,}9973) = 0.0013$$

Nous pouvons ainsi faire le tracé point par point de la courbe : $P = f(D)$ (voir fig. 4).

Nous voyons que lorsque $D = 0$, $P = 0{,}50$. Ce résultat est logique puisque, si l'ensemble des variables entrant dans le calcul de D^2 ne permet pas de distinguer les 2 populations, il y a évidemment une chance sur deux d'erreur, si l'on veut effectuer malgré tout la classification d'un individu issu du mélange de ces deux lots en utilisant la fonction discriminante correspondant au D^2 calculé.

Pour les fortes valeurs de D la courbe $P = f(D)$ admet l'axe des abscisses comme asymptote. Il n'est pas possible d'avoir $P = 0$ pour une valeur finie de D : les deux distributions couvrent toute l'échelle des abscisses de $-\infty$ à $+\infty$, l'aire hachurée de la figure 1 ne peut donc pas être nulle. Ainsi il est théoriquement impossible d'avoir une séparation parfaite entre les deux populations.

Signalons en outre que nous pouvons facilement obtenir une indication empirique de l'importance relative dans la fonction discriminante des différentes variables envisagées à l'intérieur du sous-ensemble de variables considérées : dans la formule (7) $D^2 = \alpha d' = \Sigma_i\, \alpha_i d_i$ supposons que

tous les α_i et tous les d_i soient positifs ; le rapport $\frac{\alpha_i d_i}{D^2}$ nous donnera bien une indication de la part prise par la variable x_i dans la valeur trouvée pour D^2 :

Comme α_i ou d_i peuvent être négatifs. les valeurs absolues des termes $\alpha_i d_i$ et leur somme

$$|\alpha_1 d_1| + |\alpha_2 d_2| + \cdots\cdots + |\alpha_i d_i| + \cdots\cdots + |\alpha_k d_k| = S$$

peuvent être considérées pour établir les rapports :

$$\frac{|\alpha_1\ d_1|}{S} \cdots \frac{|\alpha_i\ d_i|}{S} \cdots \frac{|\alpha_k\ d_k|}{S}$$

3. *Conditions d'emploi du critère D^2 et de la fonction discriminante de* FISHER.

Les tests concernant le critère D^2 et la fonction discriminante de FISHER, ne sont théoriquement valables que sous les hypothèses suivantes :

— les k variables considérées suivent une loi k normale.

— les matrices des variances et covariances des deux populations pour ces k variables sont homogènes.

— Les «$d_i d_j$» sont distribués indépendamment des W_{ij} : autrement dit, les produits des écarts entre les moyennes (d_i, d_j) d'une part, les variances et covariances (W_{ij}) d'autre part, ne sont pas statistiquement liées.

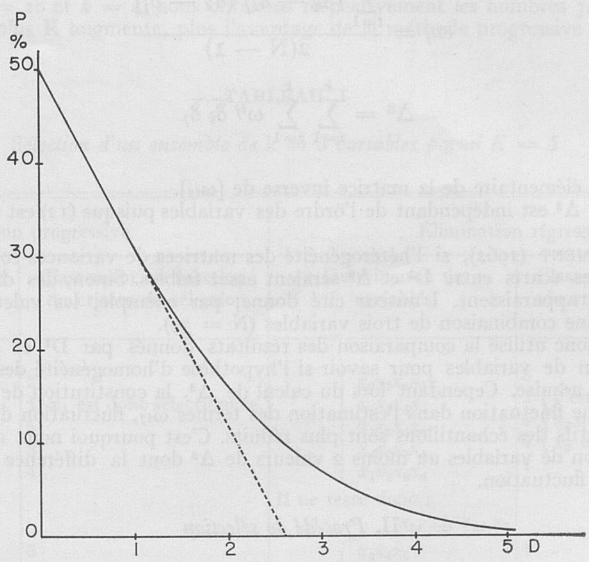


FIG. 4. — *Courbe P = f(D)*

Cette courbe est assimilable à une droite pour $D^2 < 1{,}2$ ($D < 1{,}4$).
La pente diminue ensuite très rapidement.

Nous citerons briévement les méthodes employées pour vérifier si les données de base respectent ces hypothèses :

— L'indépendance des «$d_i d_j$» et des «W_{ij}» ainsi que la normalité des distributions observées peuvent être testées graphiquement.

— par contre :

il n'est guère possible de vérifier la k normalité des combinaisons de k variables considérées le critère « F » de FISHER ne nous renseigne que sur l'homogénéité des variances des 2 échantillons.

Dans le cas où les matrices de variances-covariances sont hétérogènes, on peut utiliser à la place de D^2, la statistique Δ^2 de REYMENT (1962).

4. *Emploi de la statistique* Δ^2.

Soient 2 échantillons d'effectifs égaux N. Constituons par tirages aléatoires et exhaustifs dans chacun de ces lots, des couples interpopulation d'individus. Pour chacune de ces associations comprenant un individu t' pris dans 1 et un individu t'' pris dans 2 calculons :

$$\begin{aligned}
\delta_{1t} &= x_{1t'} - x_{1t''} \\
\delta_{2t} &= x_{2t'} - x_{2t''} \\
&\vdots \\
\delta_{it} &= x_{it'} - x_{it''} \\
\delta_{jt} &= x_{jt'} - x_{jt''} \\
&\vdots \\
\delta_{kt} &= x_{kt'} - x_{kt''}
\end{aligned}$$

qui représentent les différences entre les mesures prises pour les k caractères considérés.

Les seules données conservées à présent seront ces valeurs δ_{it} qui ont pour moyenne $\bar{\delta}_i$. Cette variable δ_{it} représente donc une différence entre individu de chaque échantillon pour un caractère donné, alors que dans la statistique D^2, la variable d_i est une différence entre des valeurs moyennes.

Soit

$$\omega_{ij} = \frac{\sum_{t=1}^{N} (\delta_{it} - \bar{\delta}_i)(\delta_{jt} - \bar{\delta}_j)}{2(N - 1)}$$

$$\Delta^2 = \sum_{i=1}^{k} \sum_{j=1}^{k} \omega^{ij}\, \bar{\delta}_i\, \bar{\delta}_j \qquad (12)$$

ω^{ij} étant le terme élémentaire de la matrice inverse de $[\omega_{ij}]$.

Ainsi que D^2, Δ^2 est indépendant de l'ordre des variables puisque (12) est une forme quadratique (voir p. 160).

D'après Reyment (1962), si l'hétérogénéité des matrices de variances-covariances n'est pas trop prononcée, les écarts entre D^2 et Δ^2 seraient assez faibles. Sinon, des différences extrêmement importantes apparaissent. L'auteur cité donne, par exemple, les valeurs $D^2 = 0{,}90$ et $\Delta^2 = 9{,}38$ pour une combinaison de trois variables ($N = 39$).

Nous avons donc utilisé la comparaison des résultats donnés par D^2 et Δ^2 concernant une même combinaison de variables pour savoir si l'hypothèse d'homogénéité des matrices de covariances peut être admise. Cependant lors du calcul de Δ^2, la constitution de couples choisis au hasard entraîne une fluctuation dans l'estimation des termes ω_{ij}, fluctuation d'autant plus importante que les effectifs des échantillons sont plus réduits. C'est pourquoi nous avons calculé pour chaque combinaison de variables au moins 2 valeurs de Δ^2 dont la différence situera l'ordre de grandeur de cette fluctuation.

II. *Procédé de sélection*

A partir d'un ensemble de base de K variables, nous nous intéressons au choix de la combinaison de k variables la plus intéressante, que nous rechercherons telle qu'elle corresponde aux valeurs de D^2 ou Δ^2 maxima. Par ailleurs, nous savons déjà que les critères D^2 et Δ^2 sont indépendants de l'ordre des variables, ce résultat réduit considérablement le nombre d'associations à envisager. Cependant, il faudrait théoriquement étudier l'efficacité statistique de toutes les combinaisons possibles entre les K variables prises 1 à 1, 2 à 2, ... k à k. L'importance des calculs nécessaires lorsque, comme c'est souvent le cas, le nombre de mesures de départ est élevé, rend ce procédé très long et coûteux.

Devant cet inconvénient, on préfère utiliser deux procédés simplifiés de sélection des variables pas à pas :

la sélection dite progressive (*forward selection*),
l'élimination régressive (*backward elimination*).

Dans le 1^er^ cas nous retenons d'abord, parmi K variables, l'une d'elles (x_i). Nous choisissons ensuite une des combinaisons de 2 variables comprenant x_i ; puis une des combinaisons de 3 variables comprenant les deux premières variables retenues etc.

Dans le 2[e] cas nous partons au contraire de l'ensemble des K variables et à chaque étape nous éliminons une variable : celle jugée la moins intéressante.

HAMAKER (1962) a défini et appliqué ces deux alternatives à la sélection d'une fonction linéaire d'un ensemble de k variables choisies parmi un ensemble plus large (K) et permettant de prédire le plus efficacement une variable extérieure aux ensembles ci-dessus. Les différentes étapes de la sélection dans les deux cas sont détaillées dans le tableau 1. L'emploi simultané de ces deux procédés est laborieux lorsque les nombres de variables sont beaucoup plus importants que ceux considérés par cet auteur.

Puisque $C_K^{K-1} = C_K^1 = K$,

les nombres de combinaisons dans la selection progressive et dans l'élimination régressive sont donnés respectivement par les expressions suivantes :

— pour la sélection progressive on a :

$$K + (K - 1) + (K - 2) + \cdots + K - (k - 1) = \frac{k\,(2K - k + 1)}{2}$$

combinaisons ;

— pour l'élimination régressive :

$$K + (K - 1) + (K - 2) + \cdots (k + 1) = \frac{(K - k)\,(K + k + 1)}{2}$$

combinaisons ;

soit en prenant $K = 20$ et $k = 4$, nous obtenons respectivement les nombres 74 et 200.

Évidemment, plus K augmente, plus l'avantage de la méthode progressive s'affirme.

TABLEAU 1

Sélection d'un ensemble de k = 3 variables parmi K = 5

	Sélection progressive		Élimination régressive	
	Combinations de variables	Classement en fonction du critère de sélection	Combinaison de variables	Classement en fonction du critère de sélection
1re Étape	x_1	2	$x_2x_3x_4x_5$	3
	x_2	1 x_2 est donc sélectionnée.	$x_1x_3x_4x_5$	2 c'est la suppression de
	x_3	5	$x_1x_2x_4x_5$	5 x_3 qui a le moins d'effet,
	x_4	3	$x_1x_2x_3x_5$	4 x_3 est donc supprimée.
	x_5	4	$x_1x_2x_3x_4$	1
			Il ne reste donc : x_1, x_2, x_4, x_5	
2e Étape	x_2x_1	3	$x_2x_4x_5$	1
	x_2x_3	4	$x_1x_4x_5$	3
	x_2x_4	2	$x_1x_2x_5$	4 x_4 est éliminer.
	x_2x_5	1 x_2x_5 est sélectionnée.	$x_1x_2x_4$	2
			Il ne reste que 3 variables : $x_1x_2x_3$	
3e Étape	$x_2x_5x_1$	1 sélection de $x_2x_5x_1$.		
	$x_2x_5x_3$	3		
	$x_2x_5x_4$	2		

D'autres considérations de simplicité et surtout d'encombrement des calculs nous ont également conduit à ne retenir dans notre étude que cette dernière. L'ensemble des calculs ci-dessus n'a pu être réalisé pratiquement que grâce à l'emploi du calcul automatique. Les possibilités des programmes réalisés à cette occasion sont décrites en annexe.

MATÉRIEL

Les deux populations que nous avons envisagées ici sont issues de pépins provenant de 50 grappes autofécondées choisies sur une trentaine de souches de deux cépages alsaciens : *Muscat à petits grains* et *Muscat Ottonel*. Environ 2 000 pépins ont été récoltés qui ont donné respectivement 83 et 116 plantes de vigueur suffisante pour être greffées après 8 mois de végétation. La seule comparaison de ces deux populations de semis n'a pas grand intérêt en soi, cependant la méthode qui est ainsi mise au point sur ce matériel pourra être appliquée à d'autres comparaisons de populations dont les semis sont en cours d'exécution actuellement. L'un des problèmes qu'il sera ainsi possible d'aborder est l'origine du *Muscat Ottonel,* cette question fera d'ailleurs l'objet d'une publication ultérieure.

Pour la présente étude nous avons pu bénéficier d'une serre chauffée où une technique de culture sans sol avec subirrigation avait été mise au point. En effet le matériel que nous avons

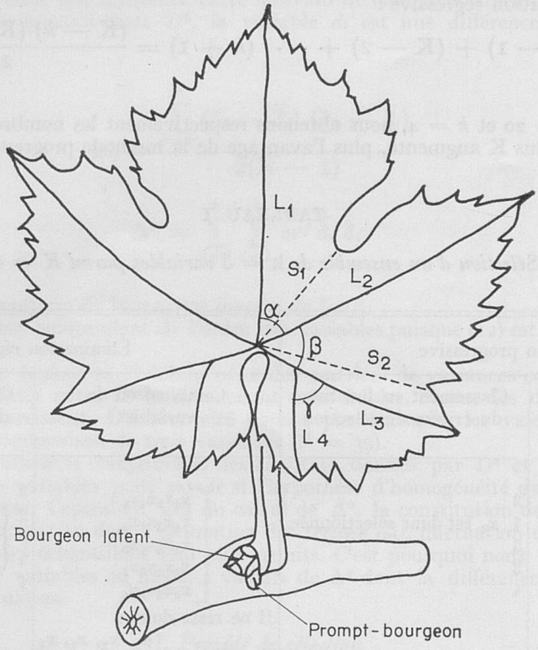


FIG. 5. — *Schéma des différentes mesures prises sur chaque feuille*

utilisé servait en premier lieu aux travaux de P. HUGLIN et B. JULLIARD (1964) visant à obtenir des inflorescences l'année même du semis en provoquant le départ de bourgeons latents, qui normalement ne se développeraient qu'au printemps suivant. A cet effet, il est nécessaire de supprimer le sommet végétatif de la jeune plante, car celui-ci est à l'origine de l'une des relations d'inhibition empêchant le développement de ces bourgeons. La grande vigueur de ces semis a permis le prélèvement de 6 feuilles ayant atteint leur taille définitive.

Cette récolte a été faite au mois d'août 1963. Les feuilles ont ensuite été pressées et séchées.

Des observations préliminaires nous ont montré que le prompt-bourgeon pouvait réduire le développement de la portion du limbe située du même côté que lui par rapport à la nervure principale. Nous n'avons donc considéré dans cette étude que la moitié de la feuille qui n'est pas sujette à cette fluctuation. Une marque au crayon feutre sur le limbe permet de retrouver facilement, au laboratoire, le « côté prompt-bourgeon ». Les mensurations faites sont prises parmi celles retenues par P. GALET dans sa méthode ampélographique (1956). Elles sont au nombre de 9 réparties en trois groupes (voir fig. 5) :

1. Mesures de longueurs : distances séparant le point pétiolaire de l'extrémité du lobe terminal correspondant à chaque nervure : L_1, L_2, L_3, L_4.
2. Distances du point pétiolaire aux deux sinus (S_1 et S_2).
3. Angles α, β, γ que font entre elles les nervures L_1 et L_2, L_2 et L_3, L_3 et L_4 respectivement.

Pour les différents caractères cités ci-dessus les moyennes par plante sont alors calculées. Les données ainsi obtenues ont pour objet d'essayer de définir la forme de la feuille, considérée indépendamment de sa taille. Cette dernière est susceptible de grandes variations d'une plante à

TABLEAU 2

Coefficients de corrélation intrapopulation entre les différents caractères retenus et L_1

Caractères mesurés	Population 1 Autofécondation *Muscat à petits grains* N_1 = 83 plantes	Population 2 Autofécondation *Muscat Ottonel* N_2 = 116 plante
« α + β »	0.23 NS	0.15 NS
γ	0.15 NS	0.07 NS
β	0.20 NS	0.16 NS
α	0.20 NS	0.17 NS
S_2	0.65**	0.54**
S_1	0.46**	0.32**
L_4	0.83**	0.88**
L_3	0.88**	0.92**
L_2	0.96**	0.95**

** Signification au seuil 0.01

TABLEAU 3

Paramètres statistiques des 2 populations étudiées

Variables x_i		Population 1 (Autofécondation du Muscat à petits grains)		Population 2 (Autofécondation du Muscat Ottonel)		Test F
Code	Définition	Moyenne mm ou grades	Variance	Moyenne mm ou grades	Variance	
1	« α + β »	113,8	139,75	136,0	78,88	1,77 **
2	γ	54,8	36,78	57,5	36,38	1,04
3	β	53,3	43,30	64,7	27,25	1,59 *
4	α	60,9	45,35	71,3	22,61	2,00 **
5	S_2	38,1	35,10	34,2	38,10	1,09
6	S_1	33,9	71,60	33,2	76,00	1,07
7	L_4	39,1	10,83	28,3	5,41	2,00 **
8	L_3	54,0	24,08	50,8	9,77	2,45 **
9	L_2	80,0	14,92	78,9	10,45	1,43

l'autre, même pour les organes ayant atteint leur taille définitive, d'où la nécessité de corriger ces mesures en fonction du facteur « taille de la feuille ». Le caractère le plus représentatif de cette fluctuation semble *a priori* être L_1, c'est pourquoi nous avons étudié les régressions entre chacune des « variables » mesurées (autres que L_1) et L_1 (voir annexe II). Lorsque le coefficient de régression intrapopulation est significatif (voir tabl. 2) et après avoir vérifié la linéarité par rapport à L_1, nous corrigeons les valeurs observées en fonction de cette régression, afin de ramener les données à celles de feuilles ayant une nervure principale de longueur $L_1 = 9$ cm. Les paramètres statistiques des données ainsi définies et correspondant aux 2 populations étudiées sont présentés dans le tableau 3.

RÉSULTATS

La normalité des variables et l'indépendance des « W_{ij} » avec les « $d_i d_j$ » ont été vérifiées graphiquement. Le tableau 3 montre que les variances des 2 populations pour les caractères « $\alpha + \beta$ », α, L_3 et L_4 ne sont pas homogènes. Cependant, nous verrons plus loin que cette hétérogénéité n'a qu'une faible incidence sur la comparaison des valeurs de D^2 et de Δ^2.

1. *Vérification de l'intérêt de la méthode de sélection progressive*

En nous basant seulement sur les 7 caractères suivants

x_1 « $\alpha + \beta$ »

x_4 γ

x_5 S_2

x_6 S_1

x_7 L_4

x_8 L_3

x_9 L_2

Nous avons cherché à vérifier la valeur de la méthode de sélection progressive, dans ce but les valeurs de D^2 correspondant à toutes les combinaisons 3 à 3 de cet ensemble ont été calculées (soit un nombre de combinaisons égal à :

$$C_3^7 = \frac{7\,!}{3\,!\,(7-3)\,!} = 35.$$

Ces résultats figurent dans le tableau 4.

On voit qu'ici la combinaison de variables retenue pour la valeur maximum de D^2 (= 5,29) est la même que celle fournie par le procédé de la sélection progressive (tabl. 5).

2. *Recherche de la meilleure combinaison de variables*

En supposant dans un premier stade l'hypothèse de base satisfaite (homogénéité des matrices de covariance), nous avons sélectionné progressivement les variables de

TABLEAU 4

Validité de la méthode de sélection progressive :
Calcul de tous les D^2 d'ordre 3 pour les 7 variables
$x_1, x_4, x_5, x_6, x_7, x_8, x_9$
Effectifs des 2 populations : 116 et 83 plantes

145	4,53	156	4,92	167	4,69	178	4,96	189	5,29
146	4,39	157	4,78	168	4,97	179	4,69		
147	4,66	158	5,12	169	4,38				
148	4,96	159	4,53						
149	4,38								
456	3,99	467	3,51	478	4,52	489	4,23		
457	3,92	468	4,07	479	3,49				
458	4,93	469	3,24						
459	3,54								
567	0,66	578	1,01	589	1,07				
568	1,09	579	0,50						
569	0,69								
678	0,88	689	0,71						
679	0,12								
789	0,93								

Ce tableau donne, en face des combinaisons de variables considérées, la valeur de D^2 correspondante

TABLEAU 5

Sélection progressive de la meilleure combinaison de k variables parmi K = 9
Effectifs des deux populations 116 et 83 plantes

k nombre de variables considérées	Meilleure combinaison de variables (en code)	D^2 (k) correspondant	Test global de D^2 (k)	Test de D^2 (k) par rapport à D^2 $(k-1)$
1	1	4,32	**	—
2	18	4,96	**	**
3	189	5,29	**	**
4	1895	5,45	**	*
5	18956	5,78	**	**
6	189562	5,91	**	*non significatif*

Le code 189 indique la combinaison de variables x_1 x_8, x_9.
** = très hautement significatif $P < 0.01$.
* = significatif $0.05 < P < 0.01$.

la fonction discriminante d'après la statistique D^2 (tabl. 5). Par ordre de sélection ce sont :

$$x_1 : « \alpha + \beta »$$
$$x_8 : L_3$$
$$x_9 : L_2$$
$$x_5 : S_2$$
$$x_6 : S_1$$

Au-delà de 5 variables, l'augmentation de la valeur de D^2 n'est plus significative. Par contre, l'élévation de D^2 de 4,32 (une seule variable : x_1) à 5.78 (correspondant à l'ensemble : $x_{1-8-9-5-6}$) est très hautement significative. Les trois catégories de mesures considérées :

(I) angles : α, β
(II) mesures de longueurs de nervures : L_2, L_3
(III) distances aux sinus : S_1, S_2

sont représentées dans les variables retenues ; on observe en outre la hiérarchie (I) > (II) > (III).

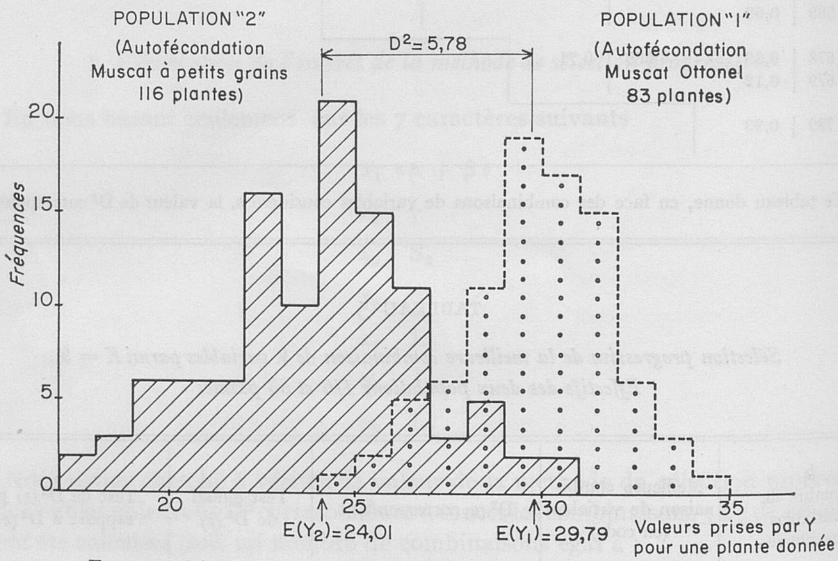


FIG. 6. — *Distribution des valeurs prises par Y pour les 116 plantes de « 1 » et les 83 plantes de « 2 »*

$(Y = 0.20\,x_1 - 0.16\,x_5 + 0.09\,x_6 - 0.31\,x_8 + 0.26\,x_9)$

Fonction discriminante de FISHER *groupant les cinq variables*

$$x_1 = « \alpha + \beta »$$
$$x_5 = S_2$$
$$x_6 = S_1$$
$$x_8 = L_3$$
$$x_9 = L_2$$

Dans un deuxième stade, nous avons comparé (tabl. 6) les résultats de la sélection basée sur D^2 à celle qu'on aurait pu faire apparaître par l'utilisation de la statistique Δ^2. Les remarques suivantes peuvent être faites à ce sujet :

1º Les valeurs obtenues pour les 2 critères D^2 et Δ^2 sont assez voisines quelle que soit la combinaison de variables envisagée.

2° Les valeurs « Δ^2 appariement n° 1 » conduisent à la sélection des mêmes variables et dans le même ordre que le critère D^2. L'appariement n° 2 donne lui aussi le même résultat à peu de chose près, la seule différence se situant lors du choix de la 3e variable. En prenant x_5 en 3e position, au lieu de x_9, nous obtenons en 4e position x_6 et en 5e x_9. Finalement là aussi, nous arrivons donc à la même

TABLEAU 6

Sélection progressive de la meilleure combinaison de k *variables parmi K = 99.*
Utilisation simultanée des critères D^2 et Δ^2.
Effectifs égaux pour les deux populations : 83 plantes.

k nombre de variables considérées	Variables ou combinaison de variables (en code)	$D^2(k)$ correspondant	$\Delta^2(k)$ correspondants appariement 1	$\Delta^2(k)$ correspondants appariement 2
1	1	*4,28*	*4,04*	*4,66*
1	2	0,21	0,24	0,21
1	3	3,35	3,25	3,60
1	4	2,98	2,68	2,97
1	5	0,47	0,51	0,45
1	6	0,01	0,00	0,01
1	7	0,05	0,04	0,05
1	8	0,52	0,48	0,50
1	9	0,04	0,07	0,04
2	12	4,29	4,07	4,67
2	13	4,28	4,08	4,66
2	14	4,31	4,08	4,86
2	15	4,50	4,24	4,94
2	16	4,31	4,08	4,68
2	17	4,70	4,44	5,32
2	18	*5,16*	*4,56*	*5,81*
2	19	4,32	4,07	4,88
3	182	5,17	4,56	5,82
3	183	5,20	4,56	5,84
3	184	5,17	4,56	5,83
3	185	5,32	4,71	*5,99*
3	186	5,16	4,56	5,81
3	187	5,19	4,56	5,83
3	189	*5,65*	*5,00*	*5,96*
4	1892	5,65	5,00	5,98
4	1893	5,67	5,01	5,98
4	1894	5,65	5,00	5,99
4	1895	*5,82*	*5,24*	*6,15*
4	1896	5,66	5,00	5,97
4	1897	5,66	5,03	5,96
5	18952	5,84	5,24	6,27
5	18953	5,85	5,25	6,18
5	18954	5,83	5,24	6,17
5	18956	*6,13*	*5,40*	*6,53*
5	18957	5,84	5,25	6,16

Pour chaque valeur de *k* les maxima $D^2(k)$ et de $\Delta^2(k)$ sont en *chiffres* italique.

combinaison de variables : $x_1x_8x_5x_6x_9$; l'ordre diffère mais cela est sans importance puisque les valeurs de D^2, Δ^2 et de la fonction discriminante de FISHER sont indépendantes de l'ordre des variables.

3° Les résultats « Δ^2 » correspondant à une même combinaison de variables diffèrent sensiblement.

3. *Fonction discriminante trouvée.*
Importance relative des différentes variables retenues

La figure 6 montre la distribution des valeurs de Y pour les 2 populations : le chevauchement des deux histogrammes est assez peu important, en effet pour $D^2 = 5{,}78$ soit $D = 2{,}40$, on trouve $P = 11{,}5$ p. 100 (voir la fig. 4). En outre nous constatons sur le tableau 7 que les deux critères retenus pour apprécier l'importance relative des différentes variables donnent des résultats concordants, à l'exception des caractères L_2 et S_2. Or, si nous supprimons la variable la moins intéres-

TABLEAU 7

Comparaison des deux critères d'évaluation de l'importance relative des variables sélectionnées

1) $k = 5$ variables

Variables retenues classées suivant l'ordre de sélection (1er critère)	x_1 = « $\alpha + \beta$ »	$x_8 = L_3$	$x_9 = L_2$	$x_5 = S_2$	$x_6 = S_1$	
α_i coefficient de la fonction discrim.	− 0,20	+ 0,31	− 0,26	+ 0,16	− 0,09	
α_i différence des moyennes	− 22,24	+ 3,25	+ 1,13	+ 3,90	+ 0,71	
$\alpha_i\ d_i$	+ 4,50	+ 1,01	− 0,29	+ 0,62	− 0,06	$D^2 = 5{,}78$
$\lvert \alpha_i\ d_i \rvert$	4,50	1,01	0,29	0,62	0,06	$S = 6{,}13$
$\dfrac{\lvert \alpha_i\ d_i \rvert}{S}$ (2e critère)	69,5 %	15,6 %	4,5 %	9,6 %	0,9 %	100 %

2) $k = 4$ variables

Ordre de sélection (1er critère)	x_1 = « $\alpha + \beta$ »	$x_8 = L_3$	$x_9 = L_2$	$x_5 = S_2$	
α_i	− 0,20	+ 0,32	− 0,23	+ 0,07	
d_i	− 22,24	+ 3,25	+ 1,13	+ 3,90	
$\alpha_i\ d_i$	+ 4,45	+ 1,08	− 0,26	+ 0,27	$\Sigma \alpha_i d_i = D^2 = 5{,}78$
$\lvert \alpha_i\ d_i \rvert$	4,45	1,08	0,26	0,27	$\Sigma \lvert \alpha_i d_i \rvert = S = 6{,}16$
$\dfrac{\lvert \alpha_i\ d_i \rvert}{S}$ 2e critère	73,5 %	17,8 %	4,3 %	4,4 %	100 %

sante (S_1), nous constatons que la légère différence observée entre les deux méthodes s'atténue : le rapport $\frac{\alpha_i d_i}{S}$ devient sensiblement égal pour L_2 et S_2 (respectivement : 4,3 p. 100 et 4,4 p. 100).

En conclusion, nous pouvons admettre pour le matériel expérimenté et à l'intérieur du groupe de mesures considéré, la hiérarchie empirique suivante :

$$\alpha + \beta > L_3 > L_2 \text{ et } S_2 > S_1$$

Les valeurs du rapport $\frac{\alpha_i d_i}{S}$ qui fixent cette hiérarchie, figurent sur le tableau 7.

DISCUSSION

1. *Partie méthodologique*

L'influence de l'échantillonnage sur les résultats de la statistique Δ^2 fait que les comparaisons ($D^2 - \Delta^2$) restent peu précises, d'autant plus que nous ne disposons d'aucun test permettant de comparer les valeurs de ces deux statistiques pour une même combinaison de variables.

Malgré ces difficultés, il est cependant évident que, dans notre exemple, les valeurs trouvées pour les 2 critères D^2 et Δ^2 sont assez voisines, quelle que soit la combinaison de variables envisagée. Nous pouvons en tirer les conclusions suivantes :

1° Malgré l'hétérogénéité des variances, assez peu marquée il est vrai, la concordance entre les résultats de D^2 et Δ^2 pour $k = 1$ reste bonne.

2° Cette concordance satisfaisante subsiste pour $k \geqslant 2$ ce qui suggère que les matrices de variances-covariances semblent ne pas être trop hétérogènes. Cette donnée quoique empirique est cependant utile comme justification *a posteriori* de la sélection basée sur D^2.

Le calcul de Δ^2 implique, rappelons-le :

1° La constitution de couples interpopulation d'individus : c'est une opération assez laborieuse à réaliser manuellement.

2° L'égalité des effectifs des 2 échantillons de population conduit à une perte d'information car le nombre d'individus à retenir est obligatoirement pris égal à l'effectif du lot de plus petite taille.

L'utilisation de la statistique Δ^2 soulève donc de nombreuses difficultés.

2. *Partie biologique*

Plusieurs auteurs se sont intéressés à l'ampélométrie. Ainsi Ravaz distingue 5 types fondamentaux de feuilles (réniforme, orbiculaire, tronquée, cunéiforme, cordiforme). P. Galet (1956), par la considération de mesures d'angles et de longueurs de nervures, définit avec précision celles-ci et montre qu'il « existe certains types intermédiaires orbiculo-réniforme, cunéo-tronqué, cunéo-cordiforme, qui effectuent la transition d'un groupe à l'autre ».

Cet auteur range les feuilles des 2 cépages *Muscat à petits grains* et *Muscat Ottonel* dans le type « orbiculaire » : il apparaîtrait donc que les feuilles de ces

2 variétés soient très semblables. Cependant, P. Galet note certaines différences dans ces 2 lots de feuilles. Celles-ci concernent principalement l'angle $\alpha + \beta$ et la distance au sinus S_2. Ces observations présentent une très bonne concordance avec nos résultats, sauf en ce qui concerne les longueurs de nervure. Ce serait malgré tout une erreur que d'accorder trop d'importance à ce rapprochement car, en fait :

1º Le matériel considéré est loin d'être comparable à celui utilisé par P. Galet : dans un cas, il s'agit des variétés elles-mêmes, dans l'autre des autofécondations faites à l'intérieur de celles-ci. L'identité ne serait effective que si nous étions en présence de lignées pures ce qui est exclu dans le cas présent.

2º Les définitions des variables que nous avons considérées, ne coïncident pas toujours avec celles de P. Galet. Ainsi toutes les mesures de longueur ont dû être rapportées à la seule variable L_1 pour des raisons de simplicité de programmation des calculs. Mais le fait de corriger les distances aux sinus au moyen de L_1, L_2 ou L_3 doit conduire à des résultats assez voisins, étant donné les très fortes corrélations reliant L_1 à L_2 et L_3 (voir tabl. 2)

Quoiqu'il en soit, ce qu'il importe de souligner c'est la sensibilté de la méthode décrite ci-dessus qui permet de distinguer de façon satisfaisante les descendances d'autofécondations de 2 cépages ayant des feuilles morphologiquement assez voisines.

CONCLUSION

Le but de ce travail était de présenter une méthode de sélection de variables, sa réalisation par le calcul automatique et son application à un exemple biologique.

Sur le plan de la technique utilisée les principaux résultats concernent :

1º Les écarts relativement faibles, autant que l'on puisse en juger, séparant les valeurs trouvées pour les critères D^2 et Δ^2 pour les combinaisons de variables considérées ; ceci même alors que les variances des 2 échantillons ne sont pas homogènes.

2º La sélection de 3 variables obtenue par le procédé de sélection progressive est la même que celle qu'a fourni une comparaison systématique de toute les combinaisons de 3 variables.

Il convient de souligner que ces résultats ne sauraient faire l'objet d'une généralisation quelconque, en particulier ils ne peuvent suffire à justifier en soi la méthode employée. C'est pourquoi il serait important d'appliquer à d'autres échantillons l'ensemble de ces techniques.

D'autres critères « multivariates » que D^2 et Δ^2 peuvent être envisagés dans le cadre de cette méthode de sélection progressive, pourvu qu'ils possèdent la propriété fondamentale d'être indépendants de l'ordre dans lequel on considère les variables. Ainsi les programmes de calcul automatique que nous avons conçus en vue d'une utilisation ultérieure concernent :

la statistique « D^2 généralisé ».

le coefficient de corrélation multiple (R^2).

Sur le plan biologique nous avons obtenu une bonne séparation des deux échantillons considérés. Aussi est-il possible que d'utiles indications nous seront fournies par l'application de cette méthode à l'étude des affinités susceptibles d'exister entre

différentes populations. D'autre part, l'emploi de la statistique « D^2 généralisé » nous permettra de rechercher les principaux caractères quantitatifs à retenir pour la caractérisation des plus petites unités systématiques d'un matériel végétal ou animal donné. On voit que les applications de la méthode ainsi définie peuvent être extrêmement variées en biologie.

Reçu pour publication en janvier 1965.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier le Bureau de Génétique et de Biologie quantitative, grâce auquel ce travail a pu être conçu et réalisé. En fait, cette étude doit beaucoup à M. VISSAC, dont les conseils nous ont été une aide précieuse dans ce domaine souvent complexe de la statistique mathématique.

SUMMARY

PROGRESSIVE SELECTION OF VARIABLES USING THE MAHALANOBIS D^2 STATISTIC APPLICATION TO THE DETERMINATION OF THE BEST DISCRIMINANT FUNCTION SEPARATING TWO SEED POPULATIONS OF VINE

It is often desirable in biology to define the quantitative characters that enable us to distinguish between two populations in the most reliable way possible. With this object in view we have made use of the D^2 statistic of Mahalanobis and the Δ^2 statistic of Reyment for determining objectively the most effective subgroups of k measurements among the total of K measurements made. The tests available enable us to determine the number of measurements to be retained. Their nature is fixed by means of a method of forward selection.

The values of D^2 and Δ^2 are calculated by a Fortran programme, the details of which are given in the appendix. This analysis is applied to two vine populations obtained by self fertilization.

In relation to the technique employed, the two main results we obtained were the following :

1° The relatively low deviations, as far as one is able to judge, between the values found for criteria D^2 and Δ^2 for the combinations of variables considered (see table 6). This applies even when the variances of the two samples are not homogeneous.

2° The selection of three variables obtained by the method of progressive selection is the same as that given by a systematic comparison of all the combinations of three variables (see tables 4 and 5).

From the standpoint of genetics, we obtained a good separation of the two samples considered (see fig. 6). It thus seems probable that useful indications will be provided by the application of this method to the study of the affinities that may exist between different populations. In fact, the applications of this method of selecting variables are likely to be very varied in biology, since other criteria (generalized D^2, multiple regression coefficient R^2) in addition to D^2 and Δ^2 may be employed.

ZUSAMMENFASSUNG

PROGRESSIVE SELEKTION VON VARIABELN MIT HILFE DER STATISTIK D^2 VON MAHALANOBIS ANWENDUNG DIESER STATISTIK ZUR FESTSTELLUNG DER CHARAKTERISTISCHEN FUNKTION DIE ZWEI POPULATIONEN VON REBSAATEN ABTRENNT

In der Biologie ist es oft erwünscht, diejenigen quantitativen Merkmale zu bestimmen, die eine möglichst genaue Unterscheidung von zwei Populationen erlauben. Zu diesem Zweck benutzten wir die Statistiken D^2 von Mahalanobis und Δ^2 von Reyment zwecks objektiver Bestimmung der

wirksamsten Untergruppen von k — Messungen in der Gesamtzahl der realisierten k — Messungen. Die verfügbaren Teste ermöglichen die Feststellung der Anzahl der vorzusehenden Messungen. Ihre Beschaffenheit wird dank eines progressiven Auswählverfahrens (*forward selection*) bestimmt.

Die Berechnung der Werte von D^2 und Δ^2 erfolgt gemäss eines Fortran Programmes, dessen Möglichkeiten in der Beilage aufgezeigt sind. Diese Analyse wird für zwei durch Selbstbefruchtung erhaltene Rebpopulationen angewandt.

Was die eingesetzte Technik anbetrifft, wurden die folgenden zwei Hauptergebnisse erhalten :

1° Die Unterschiede für die erhaltenen Werte für die Criteria D^2 und Δ^2 zwischen den Kombinationen der in Betracht gezogenen Variabeln (s. Tabelle 6), sind, soweit es sich beurteilen lässt, relativ klein, und dies sogar im Falle wo die Streuungen (*variances*) der zwei Muster nicht homogen sind.

2° Die Selektion von drei, durch das progressive Selektionsverfahren erhaltenen Variabeln, ist dieselbe wie diejenige, die einen systematischen Vergleich zwischen allen Kombinationen der drei Variabeln geliefert hat (s. Tabellen 4 und 5).

In genetischer Hinsicht, haben wir eine gute Trennung der zwei untersuchten Muster erhalten (s. Abb. 6). Es ist somit wahrscheinlich, dass wertvolle Angaben durch die Anwendung dieser Methode auf die Erforschung der Affinitäten, die zwischen verschiedenen Populationen bestehen können, erhalten werden können. In der Tat, werden die Anwendungen dieses Selektionsverfahrens womöglich sehr mannigfaltig sein, denn ausser D^2 und Δ^2, können andere Criteria (D^2 verallgemeinert, vervielfachter Regressionskoefficient R^2) verwendet werden.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DELTHEIL R., HURON R., 1959. *Statistique mathématique.* 208 p., Armand COLIN Paris.

FISHER R. A., 1936. The use of multiple measurement in taxonomic problems. *Ann. Eugen. London,* **7**, 179.

GALET P., 1956. *Cépages et vignobles de France.* vol. 1 et 2 670 p., Paul DEHAN Montpellier.

HAMAKER H. C., 1962. De l'analyse à régression multiple. *Revue de Statistique appliquée.* **X**, 23-30.

HUGLIN P., JULLIARD B., 1964. Sur l'obtention de semis de vigne très vigoureux à mise à fruits rapide et ses répercussions sur l'amélioration génétique de la vigne. *Ann. Amélior. Plantes,* **14**, 229-244.

LAMOTTE M., 1948. *Introduction à la biologie quantitative.* 369 p., MASSON et Cie Paris.

MORICE E., CHARTIER 1954. *Méthode de statistique,* 2e volume. Imprimerie nationale Paris

RAO C. R., 1952. *Advanced statistical methods in biometric research* 390 p., J. Wiley London.

REYMENT R. A., 1962. Covariances matrices in paleontologie biometry. *Biometrics,* **18**, 1-11.

VESSEREAU A., 1948. *Méthodes statistiques en biologie et en agronomie* 381 p., Baillière et fils Paris.

WAGNER R. 1963. Programmes de calculs statistiques sur ordinateur. Sélection progressive de variables basée sur : D^2 (P 63 002) R^2 (P 63 014) D^2 généralisé à K (>2) populations (P 63 015) Bibliothèque de programmes du Bureau de Génétique et de Biologie quantitative C. N. R. Z. Jouy-en-Josas (Seine-et-Oise).

ANNEXE I

Programmation Fortran

Elle est destinée à l'ordinateur IBM 1620 (20 000 positions de mémoire) ou à tout autre ensemble IBM plus puissant. Les sous-programmes suivants sont employés :

— '*processor* Fortran'

— division automatique.

1° *Objet :*

Effectuer une sélection progressive des 1, 2, ... p, ... k variables parmi K (k < K) qui permettent de séparer au mieux deux populations 1 et 2.

2° *Analyse du programme :*

a) $p = 1$:

Le programme calcule et donne les valeurs de $D^2_{(1)}$ (ou de $\Delta^2_{(1)}$) correspondant à chaque variable, ainsi que les différences moyennes entre les deux populations.

L'expérimentateur sélectionne lui-même une variable quelconque pour le stade suivant.

b) $p = 2, 3 \ldots$ *etc.*

Le programme calcule les valeurs de $D^2_{(p)}$ (ou de $\Delta^2_{(p)}$) correspondant aux combinaisons des $p - 1$ variables déjà sélectionnées avec successivement chacune des variables restantes.
Deux méthodes de sélection peuvent être appliquées :

1. *Dans le cas d'une sélection basée exclusivement sur la valeur de* D^2 :

Le programme ne donne que la valeur $D^2_{(p)}$ (ou $\Delta^2_{(1)}$) maximum et la combinaison de variables correspondante. Nous obtenons ainsi directement les résultats reproduits dans le tableau 5.

2. *Dans le cas d'une sélection faisant intervenir outre* D^2 *(ou* Δ^2*) d'autres considérations :*

Le programme donne toutes les valeurs de $D^2_{(p)}$ (ou de $\Delta^2_{(p)}$) calculées ainsi que les combinaisons de variables correspondantes.
L'expérimentateur intervient alors pour choisir lui-même la p^{ieme} variable à partir des résultats déjà obtenus et de considérations extérieures à signification biologique, facilité de mesure par exemple.
Le tableau 6 a été établi directement à partir de ces données.

c) $p = k$:

Le programme calcule et donne, outre les résultats précédents, les coefficients de la fonction discriminante de FISHER pour la combinaison de variables correspondant à $D^2_{(k)}$ maximum.

TABLEAU 8

Précision des calculs

N \ S	5 (99.999) limite du programme	5 (50 000)	5 (10 000)	4 (5 000)	4 (1 000)	3 (500)	3 (100)	2 (50)
10	4	3	2	1	0	0	0	0
100	5	4	3	2	1	0	0	0
1 000	6	5	4	3	2	1	0	0
9 999 (limite du programme)	7	6	5	4	3	2	1	0

Ce tableau donne le nombre de chiffres significatifs perdus lors du calcul des sommes de carrés et de produits en fonction :
— du nombre S de chiffres significatifs d'une observation élémentaire.
— du nombre d'individus N sur lesquels ont porté les mesures.
Il est prudent de ne pas perdre ainsi plus de 3 chiffres.

3° *Limites d'utilisation :*

1. *Variables considérées :*

— de 2 à 16 variables ($1 < K \leqslant 16$)
— de 1 à 5 chiffres significatifs (variables positives) ou de 1 à 4 chiffres significatifs (variables algébriques), voir en outre le tableau 8.

2. *Observations :*

9 999 au plus.

3. *Précisions des calculs :*

voir le tableau n° 8.

4. *Variables sélectionnées :*

de 2 à 6 variables parmi les K : $1 < k \leqslant 6$.

4° *Exécution des calculs.*

Elle comporte en fait 4 étapes :

1re étape : (séparément pour chaque population 1 et 2).

Calcul des sommes.
Calcul des sommes de carrés,
Calcul des sommes de produits des K variables.

2e étape : (séparément pour chaque population 1 et 2).

Calcul de la matrice des sommes de carrés et de produits centrés.
Calcul de la matrice des coefficients de corrélation : (uniquement si l'expérimentateur désire ce résultat).

3e étape : (pour les deux populations ensemble),

Constitution de la matrice $[W_{ij}]$ et du vecteur $[d_i]$.
Calcul et comparaison des $D^2_{(1)}$ ou des $\Delta^2_{(1)}$.

4e étape : (pour les deux populations ensemble).

Calcul et comparaison des $D^2_{(p)}$ ou des $\Delta^2_{(p)}$ ($1 < p \leqslant k$) et des coefficients de la fonction discriminante correspondant à $D^2_{(k)}$.
Chaque calcul d'une statistique pour une combinaison de variables donnée comporte :

- la constitution de la matrice (d'ordre p) des $[W_{ij}]_p$ à partir de celle des $[W_{ij}]_K$ (d'ordre K).
- la constitution du vecteur $[\bar{d}_i]_p$ à partir de $[\bar{d}_i]_K$.
- l'inversion de la matrice $[W_{ij}]_p$
- la constitution de la matrice $[\bar{d}_i\bar{d}_i]_p$
- la sommation terme à terme ($= \Sigma_i \Sigma_j W^{ij} \bar{d}_i\bar{d}_j$) des éléments de ces deux matrices d'ordre p.

Lors du passage du stade p au stade $p + 1$ et après sélection de la p^{me} variable, la matrice $[W_{ij}]_k$ et le vecteur $[d_i]_k$ sont arrangés de façon à introduire en p^{me} ligne et colonne les éléments de la variable choisie.

5° *Temps d'utilisation :*

(Ces temps sont valables pour une « sortie » sur machine à écrire)
D'après les chronométrages effectués :

— Une sélection basée exclusivement sur D^2 de 6 variables ($k = 6$) parmi 9 ($K = 9$) portant sur 2 échantillons d'effectifs 100, nécessite 18 minutes d'utilisation de l'ordinateur — temps d'« accès » et de « sortie » compris.

— Une sélection de 6 variables ($k = 6$) parmi 11 ($K = 11$) basée exclusivement sur Δ^2 et portant sur 2 échantillons d'effectifs équivalents ($N_1 = N_2 = 100$) nécessite 16 minutes.

Nota : L'utilisation mécanographique de ces programmes a donné lieu à l'élaboration d'une note technique (P 63002 — Bureau de Génétique et de Biologie quantitative, Jouy-en-Josas, Seine-et-Oise).

ANNEXE II

TABLEAU 9

Formules des droites de régression ayant servi à la correction des données

Variable indépendante	Variable dépendante	Droites de régression	
		Population 1	Population 2
L_1	L_2	$y = 0{,}95\,x - 0{,}19$	$y = 1{,}00\,x - 0{,}90$
L_1	L_3	$y = 0{,}60\,x - 0{,}07$	$y = 0{,}55\,x - 0{,}10$
L_1	L_4	$y = 0{,}36\,x - 0{,}18$	$y = 0{,}37\,x - 0{,}40$
L_1	S_1	$y = 0{,}30\,x + 0{,}80$	$y = 0{,}25\,x + 1{,}30$
L_1	S_2	$y = 0{,}31\,x + 0{,}98$	$y = 0{,}36\,x + 0{,}30$

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (2), 183-199.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA STÉRILITÉ-MALE DE L'OIGNON (*ALLIUM CEPA* L.)

E. BERNINGER

Station centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

La prospection des formes mâle-stériles d'oignon dans les variétés locales conditionne la réalisation des combinaisons hybrides les mieux adaptées à notre climat. Commencée dans nos variétés les plus courantes, la prospection a permis d'isoler un grand nombre de plantes mâle-stériles, dont le mécanisme semble classique : **S** *ms ms*. La fréquence du gène *ms* est estimée par le pourcentage de stérilité de la descendance de ces plantes. Un type différent de stérilité a été trouvé dans la variété *Jaune Paille des Vertus*, où certaines plantes stériles donnent une descendance entièrement stérile.

Plusieurs populations sont très riches en formes mâle-stériles. Le maintien de ces formes semble pouvoir s'expliquer par un avantage sélectif important des mâle-stériles au cours de la multiplication d'un nombre restreint de porte-graine.

La sélection doit tirer parti de nos observations pour isoler rapidement les formes *B* (**N** *msms*).

INTRODUCTION

Avec les progrès de la culture, mécanisation du semis puis désherbage par voie chimique, l'oignon devient une plante légumière de plein champ : ceci accroît l'intérêt des variétés homogènes pour la forme et le calibre du bulbe, la maturité, et capables de donner de bons résultats en semis direct.

L'association du rendement et de la précocité est souhaitable pour assurer aux bulbes une parfaite maturité, donc une bonne conservation, et pour réussir la culture même après un semis tardif (de fin mars en Ile-de-France par exemple). Les variétés hybrides F_1 doivent apporter à ce problème une solution satisfaisante.

La stérilité mâle chez l'oignon fut remarqué par H. A. JONES en 1925 dans un lot importé en Californie d'une variété *rouge allongée d'Italie*. Les chercheurs qui étudièrent le mécanisme génétique de cette stérilité établirent qu'elle était conditionnée par l'association d'un cytoplasme particulier **S** et d'un gène récessif *ms*. Seules sont stériles les plantes de formule **S** *ms ms*, appelées « plantes A ». Les plantes **N** *ms ms*,

mâle-fertiles, appelées « plantes B », sont utilisées pour entretenir la stérilité : en effet une plante A pollinisée par une plante B donne une descendance de formule **S** *ms ms* entièrement mâle-stérile.

Les plantes **N** ou **S** *Ms ms* et **N** ou **S** *Ms Ms* sont mâle-fertiles.

Cette situation est plus simple que celle du maïs, dans le cas du cytoplasme *Texas*, ou que celle de la betterave à sucre. Dans ces deux cas, la stérilité mâle est conditionnée par un cytoplasme et au moins deux gènes récessifs.

Une situation différente existe chez la carotte : le gène *Ms* entraîne la stérilité ; les formes **S** *Ms Ms* et **S** *Ms ms* sont stériles, mais un gène épistatique dominant pourrait rendre la forme **S** *Ms ms* normale (THOMPSON, 1961).

Les Américains utilisèrent d'abord la stérilité mâle de l'oignon dans la création d'hybrides F_1 entre la lignée *Italian-Red 13-53* et différentes populations américaines, et firent passer par une série de rétrocroisements substitutifs les caractères géniques de nombreuses lignées tirées du matériel local sur le cytoplasme **S.** Ceci permit d'élargir la gamme des combinaisons.

Depuis une dizaine d'années, les Européens ont constaté que les lignées d'oignons des États-Unis ne sont pas adaptées à nos conditions climatiques. Ce défaut est masqué par l'hétérosis chez les hybrides F_1 entre ces lignées ; ainsi certains hybrides donnent de très bons résultats à Versailles. Toutefois, leur aspect et leurs qualités ne correspondent pas vraiment à la demande locale. Il est donc nécessaire d'obtenir par sélection dans nos vieilles variétés un ensemble de lignées bien adaptées, et vigoureuses, ne serait-ce que pour assurer une production aisée des semences F_1.

Divers chercheurs ont isolé des plantes mâle-stériles dans une large gamme de variétés d'oignons :

Variété *Italian Red*, puis *Scott County Globe* aux États-Unis (PETERSON et FOSKETT, 1963), *Pukekohe* en Nouvelle-Zélande (YEN, 1959), variétés anglaises (HAIGH, 1955), allemandes (KOBABE, 1958), hollandaises (BANGA et PETIET, 1958), russes (KAZAKOVA, 1960), *Valencia d'Argentine* (GRNKO, 1964). Dans tous les cas où l'hérédité de cette stérilité fut étudiée, on la trouva identique à celle d'*Italian Red 13-53*. Ceci signifie qu'il peut être préférable de prospecter le matériel local pour le caractère désiré, plutôt que de recourir à une série de back crosses, toujours lente à effectuer en raison du caractère bisannuel de l'oignon.

Dans le programme d'utilisation de cette stérilité, il est aisé d'isoler les plantes stériles, qui sont reconnues visuellement. La recherche des plantes B est plus laborieuse : cette opération, appelée test A par les Américains, s'effectue par croisement d'une plante A (**S** *ms ms*) connue par les individus à identifier. La descendance de A × pollen X peut être :

— soit complètement fertile (pollinisateurs *Ms Ms*);
— soit 50 p. 100 fertile, 50 p. 100 stérile (pollinisateurs *Ms ms*) ;
— soit entièrement stérile (pollinisateur B = **N** *ms ms*).

De même, dans la descendance d'une plante A fécondée par une population de pollen, la fréquence des individus mâle-fertiles est égale à la fréquence q du gène *Ms* dans la population de pollen.

Jusqu'à présent, plusieurs auteurs ont trouvé le gène *ms* fréquent dans la plupart des variétés (DAVIS, 1957). La prospection commencée à Versailles en 1962 dans les principales variétés cultivées en France confirme ce résultat.

I. — RECHERCHE DES MALE-STÉRILES ÉTUDE DES MÉCANISMES DE STÉRILITÉ

Méthodes de prospection et résultats

En 1952, en collaboration avec plusieurs firmes productrices de semences, nous avons prospecté les cultures grainières de quelques variétés [1]. Le contrôle visuel fut complété, pour les plantes anormales, par un examen des fleurs à l'aide d'une loupe à fort grossissement, du genre « compte-fils ». Les plantes à anthères absolument vides de pollen furent piquetées et laissées en fécondation libre, puis récoltées individuellement. Leur descendance a fleuri en 1964.

Sur 179 descendances suffisamment nombreuses, 11 ne comprenaient aucune plante mâle-stérile. Dans ces cas, (6 p. 100 de l'effectif), nous admettons que le jugement de 1962 était erroné, et que la plante retenue n'était pas mâle-stérile, ou stérile par accident physiologique.

En 1963 et 1964, dans les collections de variétés de la Station de Versailles, les prospections ont été plus minutieuses, et l'aspect des mâle-stériles vérifié à plusieurs reprises. Par contre, le comportement des descendances de ces plantes, n'est pas encore connu. En 1964, de nombreuses plantes douteuses se sont révélées stériles en autofécondation, ou comme pollinisatrices d'autres plantes mâle-stériles. Le meilleur état sanitaire des porte-graines en 1964 justifie la confiance plus grande que nous donnons aux résultats de cette dernière campagne.

TABLEAU I

Résultats de trois années de prospection

Années	1962			1963			1964		
Variétés	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Rosé de Niort	42	10 000	0.4	2	150	1,3	4	155	2,6
Jaune de Zittau	14	2 500	0,6	3	220	1,3	7	232	3
Jaune de Sélestat	23	2 000	1,1	11	300	3,7	17	207	8
Jaune d'Auxonne	21	3 000	0,7	4	300	1,3	2	136	1,3
J. Paille des Vertus	62	6 000	1	4	80	5	8	272	3
							1	233	0,4
Stuttgart Riesen				0	150		0	166	
Jaune piriforme				0	150		0	600	

1 : Nombre de stériles observé.
2 : Effectif.
3 : Pourcentage de mâle-stériles.

Commentaires.

1. Nous pensons que l'accroissement des fréquences de mâle-stériles d'une année à l'autre est l'effet d'une prospection plus complète : les résultats de 1963 et 1964 nous permettent d'expliquer une observation faite en 1962 ; il semblait y avoir une certaine localisation des plantes mâle-stériles dans des secteurs privilégiés des champs. Ceci était particulièrement net dans le cas de la variété *Jaune de Sélestat,*

(1) Il s'agit de variétés-populations, conservées par sélection massale et multipliées en champs isolés.

où nous n'avions retenu comme stériles que 1 p. 100 des plantes alors qu'il y en a 4, et peut-être même 8 p. 100. L'aspect des plantes mâle-stériles peut être modifié selon le microclimat, et en particulier l'humidité du sol, divers parasites de la base des hampes florales ou des racines (*Botrytis*), la virose de la bigarrure. La prospection était plus efficace dans certaines zones du champ, parfois trop même, puisque trois plantes notées à tort mâle-stériles se trouvaient dans le même secteur.

2. A l'intérieur d'une même variété, les races ou sélections peuvent montrer des fréquences de mâle-stériles différentes (cas de la variété *Jaune Paille des Vertus*).

Étude des descendances des plantes mâle-stériles

En 1964, lors de la floraison des descendances (fécondation libre) des plantes mâle-stériles retenues en 1962, on a trouvé pour la plupart d'entre elles un pourcentage de stérilité assez constant dans une population donnée et caractéristique de celle-ci. L'explication la plus simple se déduit du mécanisme classique de stérilité

TABLEAU 2

Descendances de la variété Jaune d'Auxonne

Nº plante-mère	Nombre plantes Mâle-stériles	Effectif total	p. 100 Mâle-stériles	$\pm\ t\sqrt{\frac{pq}{n}}$	χ^2 77,8 %
58	32	36	88,9	± 10,4	2,57
59	14	21	66,7	21,5	
60	35	47	74,5	12,6	0,25
61	37	51	72,5	12,4	1,05
62	51	65	78,5	10,2	0,01
63	40	53	75,5	11,8	0,16
64	36	39	92,3	8,6	4,81*
65	28	50	56,0	14,0	13,83**
66	35	43	81,4	11,8	0,30
67	26	33	78,8	14,5	0,02
68	11	12	91,7	17,8	
69	2	5	40,0		
70	23	28	82,1	15,0	0,30
71	37	46	80,4	11,6	0,18
72	26	30	86,7	12,6	1,40
73	18	26	69,2	18,7	1,07
74	23	25	92,0	11,1	2,86
75	32	35	91,4	9,5	3,80 limite
76	26	33	78,8	14,5	0,02
77	22	35	62,9	16,6	4,46*
78	10	12	83,3	23,5	
Total 21 Plantes-mère	564	725	77,8	± 3,02	

Note : Le cas nº 65 peut être expliqué par l'existence d'un gène de stérilité rare et dominant : la plante-mère de génotype A*a* fécondée par des gamètes porteurs de l'allèle normal *a* aura une descendance composée pour moitié de A*a* (mâle-stériles), et pour moitié de *aa* (plantes normales).

(**S** *ms ms*), le pourcentage de stérilité étant représentatif de la fréquence du gène *ms* dans la population de pollen ayant fécondé les plantes mères en 1962. Cependant, on vérifiera la formule de chaque plante retenue pour la suite du programme de sélection, en observant le résultat du croisement avec une lignée ou un hybride américain de formule bien connue, **N** *ms ms* ou **S** *Ms ms*.

Voici par exemple le relevé des dénombrements faits dans les descendances de la variété *Jaune d'Auxonne*. (tabl. 2).

Le test χ^2 de conformité de ces descendances, lorsque les effectifs l'autorisent, montrent que les descendances n° 64, 77, et surtout 65, diffèrent de la proportion 77, 8 p. 100 de mâle-stériles. La descendance n° 75 est à la limite de signification du χ^2 (3,84 à p 0,05).

La somme des valeurs χ^2 pour l'ensemble de la population (les descendances n° 59, 68, 69, 78 regroupées ont un χ^2 non significatif de 0,46) est égale à 33,15, pour 17 degrés de liberté : elle est presque significative à p 0,01. Après élimination du n° 65, nous avons un effectif de 536 stériles sur 675 plantes, soit 79, 4 p. 100 de stériles. Le χ^2 d'homogénéité de cette nouvelle population est de 23,94, inférieur à la limite p 0,05 (26,3 pour 16 degrés de liberté).

Résultats d'ensemble.

TABLEAU 3

Descendances des mâle-stériles des différentes populations

Populations	Nombre de plantes-mères	Descendances			
		Nombre de mâle-stériles	Effectif total	p. 100 Stérilité	$\pm t\sqrt{\frac{pq}{n}}$
Rouge foncé des Ardennes	14	97	496	19,6	± 3,5
Rouge foncé de Brunswick........	20	655	712	92,0	± 2,0
Rosé de Niort n° 1	19	124	794	15,6	± 2,5
Rosé de Niort n° 2	23	85	640	13,3	± 2,5
Jaune de Sélestat..............	23	358	490	73,1	± 3,9
Jaune d'Auxonne...............	21	564	725	77,8	± 3,0
Jaune paille des Vertus n° 1	14	52	338	15,4	± 3,9
Jaune paille des Vertus n° 2	7	16	144	11,1	± 5,1
Jaune paille des Vertus n° 2	1	19	19	100	
Jaune paille des Vertus n° 3	16	57	345	16,5	± 3,9
Jaune paille des Vertus n° 3	10	265	265	100	

En dehors des populations *Niort n° 2* et *Rouge de Brunswick* (effectifs trop faibles dans la classe rare), et des deux sous-populations anormales de *Vertus n° 2* et *n° 3*, les χ^2 de conformité de 63 descendances avec la fréquence moyenne respective de mâle-stériles de chaque population ont été calculés : sur les 63 cas, deux dépassent la limite de signification à p 0,01 et 6 la limite à p 0,05.

Dans la centaine de descendances en disjonction dont les effectifs ne permettaient pas le calcul du χ^2, en nous basant sur les écarts en pourcentages qui dépas-

saient la limite de signification du test χ^2, nous avons vérifié par calcul des probabilités de la loi binomiale qu'il y avait trois cas significativement différents des moyennes.

Au total, il y a onze cas de différences significatives, sur 164 cas, soit trois de plus que la proportion 5 p. 100 de 164. En dehors de ceux-ci on peut admettre que les distributions observées sont homogènes, en raison sans doute d'une répartition uniforme du pollen dans les champs porte-graine. Le cas le plus significatif de déviation est celui d'*Auxonne n° 65*.

Cas des populations Jaune Paille des Vertus n° 2 et 3

TABLEAU 4

Descendances de la population Vertus *n° 3*

N° plante-mère	Nombre plantes mâle-stériles	Effectif total	p. 100 stérilité	N° plante-mère	Nombre plantes mâle-stériles	Effectif total	p. 100 stérilité
28	13	45	28,9	43	4	21	19,0
29	3	27	11,1	44	23	23	100
30	4	17	23,5	45	23	23	100
31	3	8	37,5	46	6	16	37,5
32	31	31	100	47	3	31	9,7
33	1	8	12,5	48	14	14	100
34	3	21	14,3	49	3	19	15,8
35	2	16	12,5	50	0	1	0
36	2	38	5,3	51	0	6	0
37	45	45	100	52	3	21	14,3
38	36	36	100	53	0	18	0
39	2	12	16,7	54	2	20	10,0
40	0	15	0	55	7	7	100
41	23	23	100	56	3	25	12,0
42	17	17	100	57	46	46	100

En dehors des descendances 40 et 53 (erreurs possibles en 1962) et 50, 51 (effectifs trop faibles), nous avons 16 plantes dont la descendance est en disjonction, avec un taux de stérilité mâle voisin de 17 p. 100 et 10 plantes dont la descendance est entièrement stérile. Un cas analogue a été trouvé dans la population *Vertus n° 2*, sur 8 plantes-mères. L'apparence des plantes mâle-stériles de ce type ne semble pas différer de celle des mâle-stériles classiques **S** *ms ms*.

Nous appellerons ce type de stérilité sans restauration type T, par opposition au type A classique. Quatre hypothèses simples peuvent être formulées pour tenter d'expliquer ce phénomène :

1re hypothèse. — La descendance de ces plantes-mères est entièrement apomictique. Pourtant, la descendance de la plante 37, au moins, n'est pas clonale : on y a noté la disjonction d'un caractère simple, étamines vertes, étamines jaunes. De plus, on a constaté que l'isolement sous sachets d'ombelles T est régulièrement stérile, alors que l'isolement d'ombelles normales est généralement fertile. Mais un stimulus

pollinique peut être nécessaire à la formation des graines (pseudogamie). Des ombelles T ont été pollinisées par des ombelles de plantes mâle-fertiles prélevées dans les descendances de plantes mâle-stériles de la variété *Rouge foncé des Ardennes* : ces plantes sont probablement de génotype **S** *Ms ms* et porteuses de gènes marqueurs (anthocyane). On pourra observer si la descendance de T × *Rouge* **S** *Ms ms* est colorée et si le gène *Ms* restaure la fertilité.

2e hypothèse. — En dehors de cette peu vraisemblable apomixie on peut imaginer des schémas peu éloignés de celui de la stérilité-mâle classique, de type A.

a) On sait que la forme hétérozygote **S** *Ms ms* est d'une fertilité pollinique variable, généralement inférieure à celle des autres formes fertiles. Le cytoplasme « Super-S » ou **T** pourrait être tel que la dominance du gène de restauration soit inversée ; seule la forme **T** *Ms Ms* serait fertile —(le gène *Ms* étant le même que dans le système classique A, nous lui conservons sa majuscule). Dans ce mécanisme comparable à celui de la stérilité mâle de la carotte, seule la forme **T** *ms ms* correspond au « type T ».

On devrait alors trouver, dans la population *Vertus n° 3* où nous supposons que les descendances en disjonction sont du type **S** *ms ms* et qui contient 16,5 p. 100 de gène *ms* (fréquence $p = 0{,}165$) dix fois plus de génotypes **T** *Ms ms* ($P \cdot 2pq = 0{,}275\, P \cdot$) que de génotypes **T** *ms ms* ($P \cdot p^2 = 0{,}027\, P$) parmi les mâle-stériles. En présence de pollen porteur du gène *Ms* avec la fréquence $q = 0{,}835$, la forme **T** *Ms ms* devrait donner $0{,}5\, q = 0{,}42$ *Ms Ms* fertiles, soit 0,58 stériles.

Ceci n'a pas été observé, et il n'y a aucune continuité entre les 16 descendances en disjonction, dont les taux de stérilité varient de 5 à 37, 5 p. 100 et les 10 descendances entièrement stériles.

b) On pourrait aussi admettre qu'un gène modificateur *G* rend les plantes **S** *Ms ms* stériles. Les différentes possibilités de croisement des plantes mâle-stériles sont rassemblées dans le tableau suivant, où p_1 est la fréquence de *ms*, q_1 celle de *Ms* p_2 est la fréquence de *G*, q_2 celle de *g*.

Dans ce cas, on voit que seules les plantes de formule **S** *ms ms GG* sont de type T. Les individus des génotypes (2) et (3) donnent une descendance en majorité stérile ; en effet, les quantités $1 - \frac{1}{2} q_1\, q_2$ et $1 - \frac{1}{2} q_1$ varient de 1 à 0,5. Dans la descendance de (4), $1 - \frac{1}{2} q_1 - \frac{1}{4} q_2$ ne peut descendre au-dessous de 0,25. Soulignons à nouveau la discontinuité qui existe entre les taux de stérilité 100 p. 100 et 37,5 ou moins. On ne peut admettre à la fois que les catégories (1) et (T) sont fréquentes, et que la catégorie (2), par exemple, est rare.

De la même façon, un gène *G* épistatique sur *Ms* conduit à la situation du tableau 6.

Dans ce mécanisme, la proportion des types (T) est plus importante que dans le cas précédent. Là encore, nous devrions trouver des types (2) et (3), donnant une descendance très riche en mâle-stériles.

Aucune de ces hypothèses n'est donc satisfaisante.

3e hypothèse. — L'action du cytoplasme **T** ou du gène *G* peut être retardée, de telle sorte que la stérilité de la descendance dépende uniquement du génotype mater-

nel ; quel que soit le pollen fécondant les plantes **T** *ms ms* ou **S** *ms ms G*, les nouveaux zygotes seront prédéterminés mâle-stériles, mais ils reprendront leur autonomie à la génération suivante.

TABLEAU 5

Formes mâle-stériles	Ovules	Pollen: Génotypes *ms G* / Fréquences $p_1\ p_2$	*ms g* / $p_1\ q_2$	*Ms G* / $q_1\ p_2$	*Ms g* / $q_1\ q_2$	Fréquence des mâle-stériles dans la descendance
(1) **S** *ms ms gg*	*ms g*	*st*	*st*	*st*	F	$1 - q_1 \cdot q_2$
(T) **S** *ms ms GG*	*ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	1
(2) **S** *ms ms Gg*	$\frac{1}{2}$ *ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	$1 - \frac{1}{2} q_1 \cdot q_2$
	$\frac{1}{2}$ *ms g*	*st*	*st*	*st*	F	
(3) **S** *Ms ms GG*	$\frac{1}{2}$ *Ms G*	*st*	*st*	F	F	$1 - \frac{1}{2} q_1$
	$\frac{1}{2}$ *ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	
(4) **S** *Ms ms Gg*	$\frac{1}{4}$ *ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	$1 - \frac{1}{2} q_1 - \frac{1}{4} q_2$
	$\frac{1}{4}$ *ms g*	*st*	*st*	*st*	F	
	$\frac{1}{4}$ *Ms G*	*st*	*st*	F	F	
	$\frac{1}{4}$ *Ms g*	*st*	F	F	F	

4e hypothèse. — Le type T peut être dû à un nouveau cytoplasme **ST** pour lequel les gènes de restauration n'existent pas dans la population *Vertus*, mais pourraient se trouver dans d'autres variétés. Si sa stabilité s'avérait satisfaisante, un tel type de stérilité mâle serait particulièrement simple à utiliser dans un programme d'amélioration, car la recherche des génotypes mainteneurs de stérilité ne serait plus nécessaire (suppression du test A).

Recherche de la stérilité mâle dans les variétés en collection

L'étude d'un grand nombre de variétés est l'une des bases de notre travail d'amélioration : nous observons notamment la production et la conservation des bulbes, leur floraison. Les effectifs ainsi suivis en collection sont forcément réduits, et pourtant la recherche des plantes mâle-stériles a été dans certains cas fructueuse.

TABLEAU 6

Formes mâle-stériles	Ovules	Pollen Génotypes *ms G* Fréquences $p_1\ p_2$	 *ms g* $p_1\ q_2$	 *Ms G* $q_1\ p_2$	 *Ms g* $q_1\ q_2$	Fréquence des mâle-stériles dans la descendance
(1) **S** *ms ms gg*	*ms g*	*st*	*st*	*st*	F	$1 - q_1 \cdot q_2$
(T) **S** *ms ms GG*	*ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	1
(T) **S** *Ms ms GG* ou *Ms Ms GG*	*Ms G* *ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	1
(2) **S** *ms ms Gg*	$\frac{1}{2}$ *ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	$1 - \frac{1}{2} q_1\ q_2$
	$\frac{1}{2}$ *ms g*	*st*	*st*	*st*	F	
(3) **S** *Ms Ms Gg*	$\frac{1}{2}$ *Ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	$1 - \frac{1}{2} q_2$
	$\frac{1}{2}$ *Ms g*	*st*	F	*st*	F	
(4) **S** *Ms ms Gg*	$\frac{1}{4}$ *ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	$1 - \frac{1}{4} q_2 - \frac{1}{4} q_1 q_2$
	$\frac{1}{4}$ *ms g*	*st*	*st*	*st*	F	
	$\frac{1}{4}$ *Ms G*	*st*	*st*	*st*	*st*	
	$\frac{1}{4}$ *Ms g*	*st*	F	*st*	F	

TABLEAU 7

Variétés	1963 Nombre mâle-stériles	 Effectif	 %	1964 Nombre mâle-stériles	 Effectif	 %
Strigunovskij (URSS)......	10	20	50			
Sorocinskij (URSS)........	5	30	18	2	8	25
Rovigo (Italie)...........	18	100	18	24	89	27
Rosé de Bretagne..........	4	100	4	33	126	26

Les variétés *Strigunovskij* et *Sorocinskij* nous ont été fournies, parmi d'autres variétés locales, par l'Institut d'Amélioration des Plantes (V. I. R.) de Léningrad. *Rovigo* est un lot de *Doré de Parme* acheté en bulbes au marché de Versaille

de même que le *Rosé de Bretagne,* en provenance du Finistère. Pour ces deux variétés, il n'est pas sûr que les acquisitions de 1963 et 1964 proviennent des mêmes lots de sélection.

Dans les quatre cas, des tests A ont été immédiatement effectués avec les plantes mâle-fertiles disponibles dans la même variété. Les résultats de ces tests seront connus à partir de 1965.

Les quatre variétés nous paraissent présenter une caractéristique commune, celle de leur uniformité phénotypique. Le lot *Rovigo,* caractérisé par des bulbes cuivrés clair en forme de toupie, a de très longues hampes florales. Le lot de Bretagne au contraire, possède un intéressant caractère de nanisme des hampes. Ce que nous savons de la production des semences de la variété *Rosé de Bretagne,* ou de *Roscoff,* pour laquelle chaque cultivateur pratique sa sélection personnelle, laisse supposer une très grande consanguinité de chaque sélection. Il en est probablement de même pour l'oignon de *Rovigo ;* quant aux populations russes, nous ignorons leur mode d'entretien (à l'échelon local, ou par le V. I. R. en petits isolements ?)

L'intérêt de telles variétés pour le sélectionneur est considérable ; il sera en effet facile d'en tirer des départs de sélection sous des formes A et B déjà très homozygotes.

II. — ÉTUDE ÉVOLUTIVE DE LA STÉRILITÉ MÂLE

Jusqu'à présent, nous avons implicitement admis que les populations d'oignons étaient panmictiques et qu'elles satisfaisaient pour la distribution du gène *ms,* à la loi de Hardy-Weinberg.

p étant la fréquence de l'allèle *ms,* q celle de *Ms,* la composition zygotique de ces populations serait donc :

$$p^2\ ms\ ms + 2\ pq\ Ms\ ms + q^2\ Ms\ Ms.$$

Dans le cas d'une stérilité mâle de type A, il y a renouvellement constant des gènes associées au cytoplasme **S**. La combinaison **S** *ms ms* ne participe à la panmixie que par ses ovules, et le gène *ms,* ainsi que la région chromosomique contiguë, se trouve donc défavorisé.

Étudions d'abord une *population porteuse du seul cytoplasme S.* Les gamètes se répartissent ainsi :

TABLEAU 8

Parents mâles		*ms ms*	*Ms ms*	*Ms Ms*	(génotypes)
		p^2	$2\ pq$	q^2	(fréquences)
Gamètes		╳	$pq \cdot ms$	$(pq + q^2)\ Ms = q \cdot Ms$	
Ovules	$p \cdot ms$		*ms ms*	*Ms ms*	
	$q \cdot Ms$		*Ms ms*	*Ms Ms*	

La fréquence des génotypes devient, à la génération suivante :

$$\frac{qp^2\, ms\, ms + (q.\, pq + pq)\, Ms\, ms + q^2\, Ms\, Ms}{1 - p^2}$$

Comme le pollen est en surabondance, il n'y a pas diminution du nombre d'individus, mais perte de p^2 gamètes mâles porteurs du gène *ms*. En l'absence de tout phénomène compensateur, la fréquence de *ms* diminuerait en un cycle de $\frac{p^2}{2}$:

$$p_1 = p_0 - \frac{p_0^2}{2}$$

Lorsque p est petit, les puissances de p d'ordre supérieur à 2 sont négligeables, et la décroissance de p après un nombre restreint (k) de générations peut être assimilée à $k\,\frac{p^2}{2}$ on a alors :

$$p_k = p_0 - k\,\frac{p_0^2}{2}$$

(Cette diminution est peu sensible quand la valeur de p est inférieure à 0,10.)

Si les *cytoplasmes S et N coexistent dans la population*, avec les fréquences P de **S**, Q de **N**, la situation devient la suivante :

TABLEAU 9

Ovules	Pollen : Des parents à cytoplasme **N**		Pollen : Des parents à cytoplasme **S**	
	Q · *p ms*	Q · *q Ms*	P · *pq ms*	P · *q Ms*
(P + Q) *p* (*ms*)	*ms ms*	*ms Ms*	*ms ms*	*ms Ms*
(P + Q) *q* (*Ms*)	*Ms ms*	*Ms Ms*	*Ms ms*	*Ms Ms*

Les proportions de **N** et **S** ne changent pas ; il y a de toute façon excès de pollen. Il y a perte de Pp^2 gamètes mâles qui auraient porté le gène *ms*.

Les fréquences des différents génotypes deviennent en une génération :

$$\mathbf{S}\ ms\ ms = \frac{P\,p^2\,(1 - Pp)}{1 - Pp^2} \quad \text{au lieu de } P.p^2$$

$$\mathbf{N}\ ms\ ms = \frac{Q\,p^2\,(1 - Pp)}{1 - Pp^2} \quad \text{au lieu de } Q.p^2$$

$$\mathbf{S}\ Ms\ ms = \frac{P\,pq\,(2 - Pp)}{1 - Pp^2} \quad \text{au lieu de } 2\ P.pq$$

$$\mathbf{S}\ Ms\ Ms = \frac{P\,q^2}{1 - Pp^2} \quad \text{au lieu de } P.q^2 \,.$$

La perte du gène *ms* se trouve freinée par la présence du cytoplasme **N**, d'autant plus efficacement que P est plus faible. En effet, avec les mêmes approximations que précédemment, nous pouvons écrire :

$$p_k = p_0 - k\,P\frac{p_0^2}{2}$$

Les phénoménes compensateurs de la perte du gène ms

Recherchons d'abord quel phénomène peut maintenir un équilibre dans le système génétique représenté au tableau 8.

Nous savons que le gène *ms* est généralement abondant dans les populations : il faut donc qu'il y ait un avantage sélectif, soit des plantes mâle-stériles, soit des gamètes porteurs de *ms*, soit des zygotes *Ms ms*.

1. Les plantes mâle-stériles peuvent fournir plus de graines que les autres, ou les ovules porteurs de *ms* être plus viables. En fait, nous avons constaté, lors d'un premier sondage, sur 20 plantes mâle-stériles et leurs voisines fertiles, que la fructification était, en 1964, légèrement meilleure chez les mâle-stériles (comptages sur 10 fleurs par ombelle).

Sondage du 4 août

10 plantes mâle-fertiles	en moyenne, 4,32 graines par fleur
10 plantes mâle-stériles	en moyenne, 4,58 graines par fleur

Sondage du 24 août

10 plantes mâle-fertiles	en moyenne, 3,64 graines par fleur
10 plantes mâle-stériles	en moyenne, 3,85 graines par fleur

Dans les deux cas, l'avantage des stériles est d'environ 6 p. 100. Ce résultat n'entraîne pas forcément que les plantes mâle-stériles donnent plus de graines que les autres ; une telle comparaison est difficile à mener sur un matériel aussi hétérogène que le nôtre.

Cependant, à lui seul un avantage de cet ordre ne peut pas compenser la perte du gène récessif *ms*. Il ne peut rétablir l'équilibre que si les mâle-stériles produisent deux fois plus de graines que les individus normaux (Lewis, 1941).

2. Un autre avantage des plantes mâle-stériles est de ne produire de graines qu'en fécondation croisée, alors que les mâle-fertiles s'autofécondent dans une faible proportion. Les plantules issues de ces autofécondations sont défavorisées dans la concurrence entre phénotypes.

Cet avantage n'est pas négligeable ; nous avons estimé que le taux d'autogamie dans les grandes populations d'oignons est inférieur à 10 p. 100, à l'aide du raisonnement suivant :

Sur 1600 autofécondations artificielles dans une quinzaine de populations, nous avons obtenu assez régulièrement une ségrégation pour l'albinisme de type 3 : 1, dans 20 p. 100 des cas. Supposant que les loci d'albinisme sont tous différents les uns des autres, seules, dans un lot de semences

issu de fécondation libre, les autofécondations peuvent dans 20 p. 100 des cas, donner naissance à une plantule albinos (une fois sur 4). Cette approximation exagère l'importance du taux d'autofécondation, car le nombre des mutants d'albinisme est limité.

$$\text{Taux max. d'autofécondations} = \frac{\text{Taux d'albinisme observé en populations} \times 4}{\text{Taux des hétérozygotes albinos}}$$

Le taux de plantules albinos dans les grandes populations excède rarement 5 p. 1 000, et nous avons :

$$\text{Taux maximum} = \frac{0{,}005}{0{,}20} \times 4 = 0{,}10$$

Du fait des autofécondations, 10 p. 100 des graines produites par les mâles-fertiles sont nettement défavorisées, ce qui correspondrait à un avantage sélectif voisin de 1,10 pour les mâle-stériles.

Dans le cas des petites populations, ce taux et cet avantage augmentent en fonction de la réduction de l'effectif reproducteur. A la limite, lorsque la reproduction n'est plus assurée que par quelques plantes dont le début et la fin de la floraison s'étalent sur une ou deux semaines, les plantes mâle-fertiles portent probablement un grand nombre de graines inbred. Nous avons dû faire appel à cette hypothèse d'une très grande consanguinité pour expliquer certains cas, où la fréquence des plantes mâle-stériles est très élevée (populations *Sorocinskij*, *Strigunovskij*, *Rovigo*, *Rosé de Bretagne*).

Il est également possible que les mâle-stériles aient, en bulbe, un aspect particulier qui augmente la probabilité de leur choix par le sélectionneur.

3. Par contre, un avantage α du pollen porteur de *ms* (doué par exemple d'une longévité ou d'une vitalité supérieure) tel que : $\alpha = \frac{1}{1 - p} = \frac{1}{q}$, permet de rétablir l'équilibre à chaque génération.

Dans le système plus complexe du tableau 9, l'avantage α devient $\alpha = \frac{1}{1 - \mathrm{P}p}$.

Pour des valeurs α très voisines de 1, cette hypothèse est acceptable, mais sa vérification expérimentale est difficile. Dans un cas tel qu'il résulte de dénombrements réels, où $\mathrm{P} = 0{,}10$ et $p = 0{,}90$, on aurait $\alpha = 1{,}10$. Dans les tests A du type **S** *ms ms* $\times$ **N** ou **S** *Ms ms*, cet avantage devrait biaiser les proportions du back-cross, avec 0,55 stériles au lieu de 0,50. Dans la pratique, de tels accidents n'ont pas encore été remarqués.

En somme, il y a deux catégories d'avantages : Les premiers sont liés à l'état mâle-stérile (supériorité possible dans la production des graines, avantage de l'ordre de 1,05 à 1,10 par séparation des sexes) et mènent à l'accroissement de la fréquence P du cytoplasme **S**, qui se montre envahissant ; tout accroissement de P entraîne une perte accrue en gamètes mâles porteurs du gène *ms*. Les seconds liés au gène *ms* (en particulier, avantage α du pollen) ne sont pas prouvés, mais ils permettent d'expliquer la persistance du gène *ms*.

Tous ces avantages sont assez faibles en valeurs numériques, et leur mise en évidence expérimentale sera délicate.

En appliquant les valeurs estimées de ces avantages à un exemple théorique, nous obtenons les résultats suivants :

Pour $\alpha = 1{,}05$, l'équilibre est réalisé pour des valeurs du produit $\mathrm{P}p$ voisines

de 0,05 (par exemple P = 0,25, p = 0,20). Le génotype **S** *ms ms* peut apparaître avec une fréquence Pp^2 variant de 0,005 à 0,04 environ, selon les valeurs propres de P et p.

Pour une valeur β (ensemble des avantages liés à l'état mâle-stérile) du même ordre (β = 1,05), la fréquence P s'accroît en une génération de

$$\Delta P = \frac{(\beta - 1)\, P\, p^2}{1 + (\beta - 1)\, P p^2}$$

soit pour P = 0,25 et p = 0,20, ΔP = 0,000 5 environ, et $\frac{\Delta P}{P}$ = 0,002.

L'accroissement de P est donc lent. Les variations dues à la dérive ou au choix du sélectionneur sont sans doute plus importantes.

III. — APPLICATION DES RÉSULTATS EN SÉLECTION

Récapitulation des résultats de l'analyse des populations

Les anomalies de la variété *Jaune Paille des Vertus* mises à part, nous pouvons grouper ces résultats dans le tableau suivant.

TABLEAU 10

Résultats de l'analyse des variétés

Populations	Fréquence des mâle-stériles = Pp^2	Fréquence p de *ms*	p^2	Fréquence P de **S**
Rouge foncé des Ardennes	0,01 à 0,02	0,20	0,04	0,25 à 0,50
Rouge foncé de Brunswick	0,01 à 0,02	0,92	0,85	0,011 à 0,022
Rosé de Niort	0,013 à 0,026	0,15	0,022	0,55 à 1
Jaune de Sélestat	0,04 à 0,08	0,73	0,53	0,08 à 0,15
Jaune d'Auxonne	0,013	0,78	0,61	0,02
Jaune paille des Vertus	0,01 à 0,04	0,15	0,022	0,4 à 1

p = Fréquence observée du gène *ms*,
P = Fréquence *calculée* du cytoplasme **S**, tous les mâle-stériles étant supposés de type A, avec la fréquence Pp^2.

Rappelons que G. Kobabe (5) a trouvé pour la variété *Jaune de Zittau* 0,03 mâle-stériles, avec p = 0,80 à 0,90. Il y aurait donc dans le *Jaune de Zittau* P = 0,05 environ.

On notera que la valeur de P est très approximative, surtout quand p^2 est petit.

Il est curieux de constater que les fréquences p de *ms* se groupent aux deux extrêmes : valeurs voisines de 0 ou de 1. Ces fréquences sont peut-être l'indice de

parentés communes, d'un côté à un groupe *Ardennes, Niort, Vertus,* de l'autre côté à un groupe *Brunswick, Sélestat, Auxonne, Zittau.* Dans le premier groupe, le cytoplasme **S** est fréquent, mais la rareté du gène *ms* rend délicate la recherche des plantes B (**N** *ms ms*). Il sera avantageux de procéder à une autofécondation, augmentant la fréquence des génotypes homozygotes, avant de chercher les plantes B. Dans le second groupe, au moins 50 à 60 p. 100 des plantes sont de génotype **N** *ms ms*, et leur mise en évidence ne pose pas de grave problème.

Le cas des variétés de la collection à fort pourcentage de stérilité pourrait s'expliquer par des fréquences élevées du cytoplasme **S** et du gène *ms*, tandis que les variétés dans lesquelles la prospection est restée négative (*Piriforme, Stuttgart-Riesen*) représenteraient les cas où P et *p* sont faibles. (Par exemple, inférieurs tous deux à 0,10.)

Orientation du programme de sélection

Nos premières cultures de lignées S_1 montrent que les populations réagissent de manières variées à l'autofécondation ; certaines supportent bien l'isolement en sachets et donnent des lignées plutôt vigoureuses (par exemple *Auxonne*), d'autres donnent des lignées très dissemblables et beaucoup de déchets. La production de graines des S_1 est aussi très variable, et il est probable que la stérilité deviendra un obstacle dès la deuxième ou la troisième autofécondation dans une bonne part du matériel.

Dans la sélection des lignées destinées à la création d'hybrides F_1, nous recherchons la gamme la plus étendue possible de formes femelles (A et B), pour pouvoir produire un grand nombre d'hybrides expérimentaux dans un nombre limité d'isolements (un seul pollinisateur par cage). D'autre part, la recherche des plantes B est la partie délicate du programme, et nous avons vu que la marche à suivre peut être différente, selon la fréquence des génotypes B dans les populations.

Nos premiers essais de croisements entre plantes mâle-stériles et mâle-fertiles, retenues simplement d'après l'aspect des bulbes à l'issue d'une culture et d'un hiver de conservation en conditions difficiles, font ressortir une vigueur et une régularité des hybrides très souvent supérieures à celles des variétés populations commerciales. Beaucoup de combinaisons heureuses entre plantes de populations différentes, et parfois entre plantes de la même population, ont été obtenues.

Nous ne savons pas si ces qualités des hybrides sont mises en relief par la médiocrité de la plupart des variétés populations, sélectionnées surtout pour un type morphologique ou physiologique donné, ou s'il faut y voir le résultat d'une bonne adaptation aux conditions locales, principalement de photopériode et de parasitisme. L'adaptation semble jouer un grand rôle chez l'oignon, elle peut expliquer le mauvais comportement à Versailles des lignées et de plusieurs hybrides américains, et des premières combinaisons entre matériel américain et individus de *Jaune Paille des Vertus*, ainsi que l'insuccès de nombreuses populations sélectionnées en Hollande, ou dans le midi de la France.

Dans l'immédiat, l'obtention de lignées femelles en grand nombre impose un tri peu sévère de celles-ci. Les lignées femelles doivent d'abord posséder une vigueur suffisante pour produire beaucoup de graines. On sera plus exigeant sur la fixité et les qualités agronomiques des mâles, qui seront jugés en lignées et en combinaisons, d'après l'uniformité et la valeur de leurs descendances. Une sélection généalogique

portant sur un large effectif d'individus pris dans les populations de valeur doit permettre d'atteindre cet objectif.

Reçu pour publication en février 1965.

REMERCIEMENTS

Nous remercions les établissements :

BLAIN fils aîné à Avignon, BLAIN, HERBA et BLAINCO à Saint-Rémy-de-Provence, VICTOR BORET à Saumur, CAILLARD et QURIS à Angers, CLAUSE à Brétigny-sur-Orge, FRANCE-GRAINES à Beaufort-en-Vallée, TEZIER FRÈRES à Valence, VILMORIN-ANDRIEUX à Verrières, qui ont autorisé la prospection dans leurs champs de production de semences et assuré la récolte des plantes mâle-stériles.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BANGA O., PETIET J., 1958. Breeding male-sterile lines of Dutch onion varieties as a preliminary to the breeding of hybrid varieties. *Euphytica*, **7**, 21-30.

DAVIS E. W., 1957. The distribution of the male-sterility gene in onion. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, **70**, 316-318.

GRNKO J., 1964. Dir. Station horticole de la Consulta (Argentine). Communication verbale.

HAIGH J. C., 1955. Plant breed. report. *6th ann. Rep. of nation. Vegetable Res. Stat.*, 14-15.

JONES H. A., DAVIS G. N., 1944. Inbreeding and heterosis and their relation to the development of new varieties of onions. *U. S. D. A. Techn. Bull.* n° 874.

KAZAKOVA A. A., 1960. Stérilité de l'oignon, (en russe). *Vestn. Sel'sk. Nauka*, n° 10.

KOBABE G., 1958. Entwicklungsgeschichtliche und genetische Untersuchungen an neuen männlich sterilen Mutanten der Küchenzwiebel. *Z. Pflanzenzücht, Dtsch.*, **40**, 353-384.

LEWIS D., 1941. Male-sterility in natural populations of hermaphrodite plants. *New Phytologist*, **40**, 56-63.

L'HÉRITIER Ph., 1949. Les méthodes statistiques dans l'expérimentation biologique. 93 p. C. N. R. S.

PETERSON C. E., FOSKETT R. L., 1953. Occurence of pollen sterility in seed fields of Scott County Globe onion. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, **62**, 443-448.

THOMPSON D. J., 1961. Studies on the inheritance of male sterility in the Carrot. *Proc. amer. Soc. hort. Sci.*, **78**, 332-338.

YEN D. E., 1959. Pollen sterility in Pukekohe longkeeper onions. *New. Zeal. J. agric. Res.* **2**, 3, 605-612.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF MALE STERILITY IN THE ONION
(« ALLIUM CEPA » L.)

The search for male-sterile forms of onion among the local varieties is a prerequisite for the production of the best adapted hybrid combinations for our climate. Having been started in our most common varieties, the study has enabled us to isolate a large number of male-sterile plants, in which the mechanism seems to be the classical **S** *ms ms*. The frequency of the gene *ms* is estimated by the percentage of sterility in the progeny of these plants. A different type of sterility has been found in the variety *Jaune paille des Vertus*, where certain sterile plants give an entirely sterile progeny.

Several populations are very rich in male-sterile forms. The maintenance of these forms seems to be explained by a considerable selective advantage of the male-sterile individuals on multiplication of a limited number of seed plants.

Plant breeding should benefit by our observations in isolating forms *B* (**N** *ms ms*) rapidly.

ZUSAMMENFASSUNG

BEITRAG ZUR ERFORSCHUNG DER MÄNNLICHEN STERILITÄT DER ZWIEBEL (« ALLIUM CEPA » L.)

Die Erforschung der männlichen Sterilformen der Zwiebel in den lokalen Sorten bedingt die Verwirklichung der am besten unseren Klimabedingungen angepassten hybriden Kombinationen. Von unseren gewöhnlichsten Sorten ausgehend, ermöglichten die Untersuchungen, zahlreiche männlich — sterile Pflanzen zu isolieren, deren Mechanismus klassig erscheint : **S** *ms ms*. Die Genfrequenz *ms* wird durch den Sterilitätsprozentsatz der Nachkommenschaft dieser Pflanzen beurteilt. Ein abweichender Sterilitätstyp wurde in der Sorte *Jaune paille des Vertus* gefunden, wo gewisse sterile Pflanzen eine vollkommen sterile Nachkommenschaft ergeben.

Mehrere Populationen weisen sehr viele männlichsterile Formen auf. Es scheint, dass die Aufrechterhaltung dieser Formen auf einen beträchlichen selektiven Vorteil der männlichen Sterilität, während der Vermehrung einer beschränkten Zahl von Samenträgern, zurückgeführt werden kann.

Die Selektion soll unsere Beobachtungen ausnützen um die Formen *B* (**N** *ms ms*) schnell isolieren zu lernen.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (2), 201-222.

RÉSULTATS DE L'INFECTION D'UNE COLLECTION DE HARICOTS PAR SIX RACES PHYSIOLOGIQUES D'ANTHRACNOSE

H. BANNEROT

Avec la collaboration technique de Tuyen le TAN

Station centrale d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

Quatre cent trente lignées de haricots ont été infectées séparément avec 6 clones d'Anthracnose différents.

La classification des variétés en sensibles et résistantes vis-à-vis de chaque souche, a permis de voir que la résistance à certains des clones essayés n'existe pas *à l'état isolé*, mais apparaît toujours comme un complément de la résistance à d'autres clones. On en déduit que cinq des souches essayées s'apparentent les unes aux autres. On a pu les ranger dans deux familles.

Cinq résistances apparemment complètes à l'Anthracnose ont été mises en évidence, parmi lesquelles celle de *Cornell* 49 242, déjà connu et utilisé en amélioration.

INTRODUCTION

L'Anthracnose, la plus grave des maladies du Haricot, est causée par un champignon Adelomycète : *Colletotrichum lindemuthianum* SACC. et MAGN. (BRI. et CAV.).

Le parasite se transmet par la semence et le commerce international l'a répandu et continue à le répandre dans le monde entier.

Pour se défendre contre cette maladie, trois moyens bien différents peuvent être utilisés :

— les traitements chimiques en culture (ils sont malheureusement inefficaces sur la semence infectée),
— l'utilisation de semences saines produites en zone aride,
— la résistance variétale.

La troisième solution est plus simple et moins coûteuse que les deux autres : elle a donc tenté un certain nombre de chercheurs (BURKHOLDER, 1918 ; SCHREIBER, 1932-1933 ; WADE et ANDRUS, 1942). Pourtant, jusqu'à une époque récente, les lignées sélectionnées en vue de la résistance, ont été rapidement attaquées, en général aussi violemment que les variétés qu'elles prétendaient remplacer.

Ce phénomène, classique en amélioration des plantes, tenait à la multiplication rapide de races physiologiques inexistantes, inconnues ou négligées au départ du travail d'amélioration.

C'est dans le but de classer les réactions d'un grand nombre de variétés en face de quelques races connues et pures et de trouver éventuellement de nouvelles sources de résistance que ce travail a été entrepris.

I. — MATÉRIEL BIOLOGIQUE UTILISÉ

A. *Haricot*

Les variétés essayées proviennent presque toutes de la collection de la Station centrale d'Amélioration des Plantes commencée en 1952 et augmentée régulièrement depuis, en particulier par P. PÉCAUT entre 1954 et 1958.

Cette collection est maintenue sous forme de « lignées pures » par la méthode : « pedigree ». Pour chaque variété à multiplier, trois lignées (20 grains par ligne) sont semées côte à côte et vérifiées pendant toute la durée de la végétation, du double point de vue de l'homogénéité sur la ligne et entre lignes et de la conformité au « standard » constitué par la documentation existante et les éventuelles notations antérieures. Il s'agit donc là d'une méthode de contrôle *a posteriori* de l'autofécondation.

Suivant les années, on élimine de 2 à 6 p. 100 d'hybrides naturels reconnaissables à leurs caractères différents. L'élimination de lignes entières pour disjonction ou non conformité est rare, ce qui prouve l'efficacité du tri précédent.

Les grains utilisés pour l'essai proviennent d'une lignée ou d'un mélange de lignées conformes, récoltées une année sans Anthracnose (1959 en majorité).

Pour les variétés d'introduction récente, les tests ont été faits directement sur les échantillons reçus, révélant parfois leur hétérogénéité génétique.

B. *Anthracnose*

Les six races utilisées ont les origines suivantes :

TABLEAU I

Races	Variété d'origine	Isolement
PV_6	*Princesse double de Hollande* . .	ALLARD (Versailles) 1959
D_{10}	*Beurre doré*	FAIVRE (Versailles) 1956
E_8b	*Coco de Prague marbré nain* . .	FAIVRE (Versailles) 1956
I_4	*Imuna*	BANNEROT (Versailles 1959
α_1	*Animo ?*	HUBBELING (?) 1953 ?
α_5	*Mutant ou recombinant* in vitro	HUBBELING (Wageningen) 1959

Pour plus de sécurité, au départ de ce travail, chaque souche a été reprise à partir d'une colonie monospore obtenue par dilution.

En culture sur milieu de MATHUR et *al.* à l'obscurité, les races montrent des différences d'ordre morphologique :

TABLEAU 2

	PV_6	D_{10}	E_8b	I_4	α_1	α_5
Couleur de la sporulation	Rose clair	Chocolat	Rose virant au jaunâtre	Rose vif	Canelle	Brun foncé
Consistance de la sporulation	cireuse	très cireuse	très fluide	cireuse	fluide	fluide
Présence de mycélium aérien au début	+	—	—	+	—	—
Présence de *setae*	+	+	+/—	+	+/—	+
Rendement en spores (noté de 0 à 5)	2	5	3	4	4	5

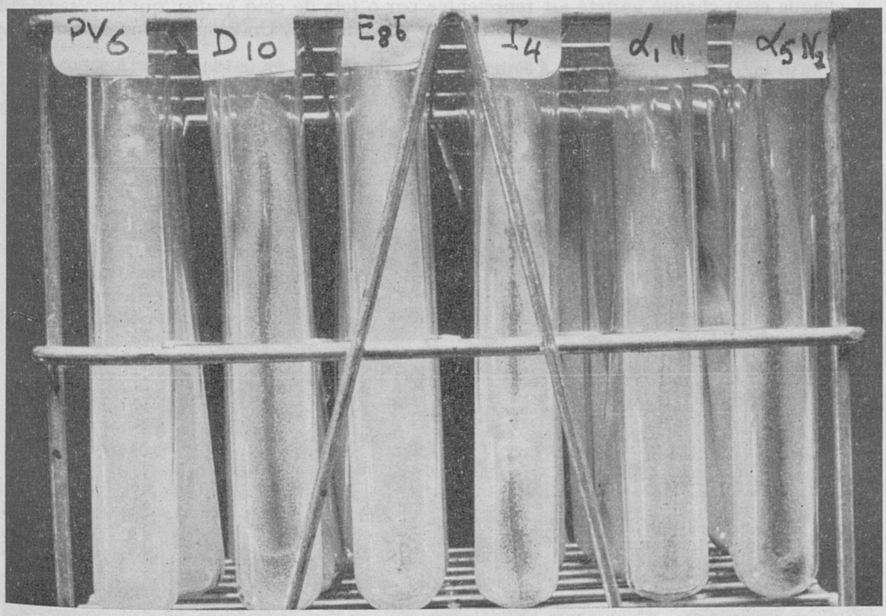


FIG. 1.

Les caractères pathologiques des races sont également différents comme le montrent les notes d'attaque sur 5 hôtes différentiels.

Les quatre premières races correspondent aux quatre types α, β, γ, δ définis par HUBBELING. La cinquième race pourrait être rangée dans le groupe β comme D_{10}, mais elle a été choisie parce qu'elle attaque moins de variétés que D_{10}. Elle se rattache au groupe *Epsilon* défini par BLONDET en 1962. A l'inverse la sixième race, malgré sa faible vigueur d'attaque, a un spectre ea] strrge, elle se comporte en effet comme γ et δ à la fois.

TABLEAU 3

	PV_6	D_{10}	E_8b	I_4	α_1	α_5
Imuna	0	0	1	5	0	3
Kaboon	0	0	5	0	0	3
Widusa	4	0	0	5	0	4
Processor	4	5	5	5	0	4
La Victoire	4	5	5	5	5	4

II. — MÉTHODES UTILISÉES

1. *Culture du Haricot*

L'unité de culture est une terrine en poterie de 30 × 30 cm, remplie de sable de rivière et où ont été creusés préalablement 100 trous à l'aide d'une matrice spéciale.

A chaque essai chaque variété est représentée par 6 lots de cinq grains, qui sont semés dans 6 terrines différentes destinées chacune à l'infection par une race. On groupe donc 20 variétés par terrine.

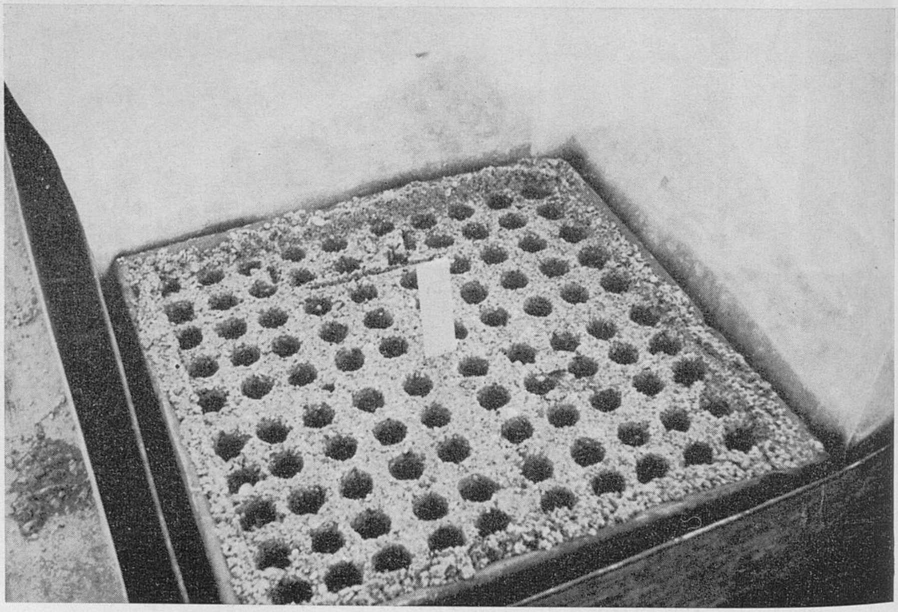


FIG. 2.

Les terrines sont ensuite coiffées d'une tente en polyéthylène pour la germination. Ce matériau, qui maintient une atmosphère saturante tout en permettant les échanges gazeux, évtei d'avoir à recouvrir les grains. On a ainsi un contrôle parfait de la germination et un repérage immédiat des lignes.

Le stade d'infection optimum est celui de la crosse déployée. Les plantes n'ayant pas atteint le stade de la crosse bien pigmentée ou qui ont dépassé celui des préfeuilles déployées sont éliminées.

Dans les conditions de ce travail (serres à 20° ± 5°), l'infection est à faire sensiblement 7 jours après le semis.

2. *Culture du parasite*

Pour l'infection, les six races sont multipliées en boîtes de Roux, sur le milieu suivant (milieu de MATHUR LILLY et BARNETT légèrement modifié).

Glucose	2,8 g
$SO_4Mg, 7H_2O$	1,23 g
PO_4H_2K	2,72 g
Peptone bactériologique (UCLAF 1959)	2 g
Extrait de levure	traces
Gélose	20 g
Eau	1 000 cm^3

A cause de l'acidité particulière de ce milieu, il est préférable de dissoudre la gélose au bain-marie et de régler l'autoclave sur une température relativement basse (20 minutes à 110°). Si l'on ne respecte pas ces deux précautions, la gélose a tendance à s'hydrolyser et le milieu n'a pas de tenue.

Après 5-6 jours de culture à 20°, on verse environ 50 cm^3 d'eau ordinaire dans chaque boîte et on agite vigoureusement.

On filtre ensuite sur coton hydrophile pour éliminer mycélium, *setae* et gélose qui boucheraient le pulvérisateur.

Les concentrations obtenues ne sont jamais inférieures à 5 000 spores au mm^3 et dépassent souvent 20 000 pour les souches à forte sporulation, ce qui se traduit par une couleur franchement rose du jus.

3. *Infection*

Le jus préparé est pulvérisé sur les plantules à l'aide d'un pulvérisateur de fabrication artisanale alimenté par un petit compresseur. On pulvérise jusqu'à la formation de gouttes roulantes sur toutes les plantules.

Les terrines sont alors recouvertes à nouveau pendant 3 ou 4 jours pour l'incubation. A 20°, les premiers symptômes apparaissent au bout de 5 jours.

4. *Notation*

La notation se fait 6 ou 7 jours après l'infection.

Tous les auteurs ont reconnu qu'elle est assez délicate, en effet, l'attaque d'une variété par une race doit être considérée comme l'interaction d'au moins trois facteurs :

1° La « force » de la race (le terme de « virulence » proposé par ZADOCKS est malheureusement utilisé dans une acception différente par d'autres pathologistes).

On peut la mesurer par la note obtenue avec cette race sur une variété de référence moyennement sensible, ne présentant pas de résistance spécifique (par exemple *Saxa*).

Plus grossièrement, on peut l'approcher en faisant la moyenne des notes observées sur les *variétés sensibles à cette race*.

2° La « sensibilité propre » de la variété (pouvant parfois s'abaisser jusqu'au niveau de « résistance partielle » ou de « tolérance », éventuellement utilisable en amélioration).

On la mesurera par la note obtenue sur cette variété avec une race de référence de force moyenne, mais attaquant toutes les variétés. La race α_5 pourrait, malgré sa force un peu insuffisante et faute de mieux, être utilisée pour cette mesure.

Comme dans le cas précédent, une approximation est fournie par la moyenne des notes obtenues sur cette variété avec les *races attaquant cette variété*.

3° L'action particulière d'une race donnée sur une variété donnée, dont on fait ici l'hypothèse

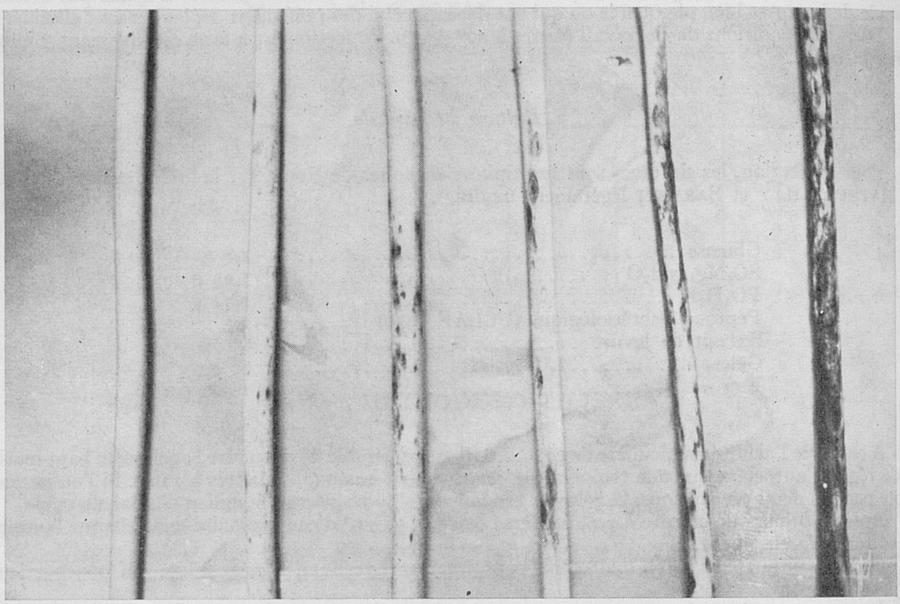


FIG. 3. — *L'échelle de notation* : 0 1 2 3 4 5

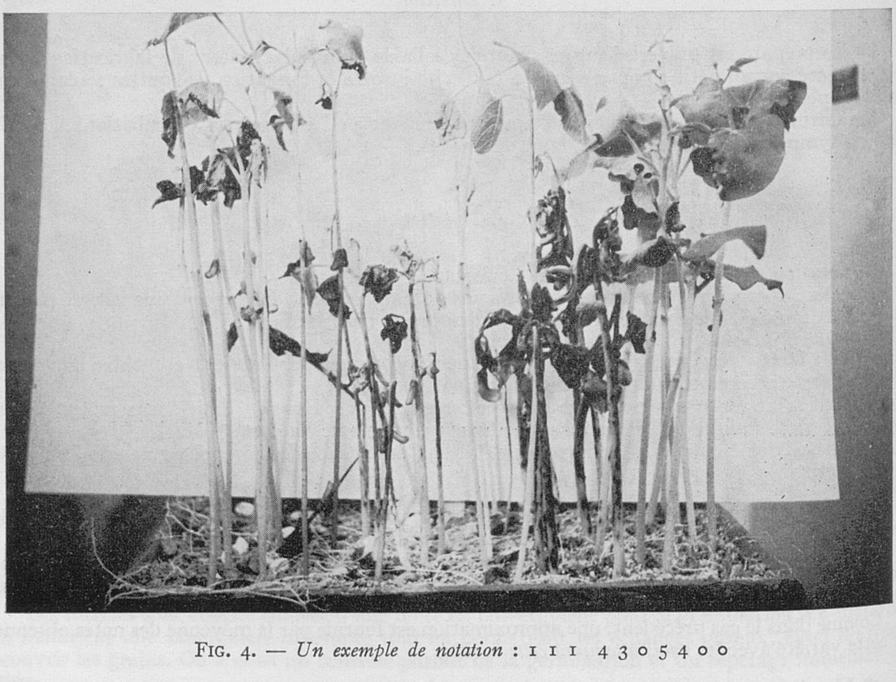


FIG. 4. — *Un exemple de notation* : 1 1 1 4 3 0 5 4 0 0

qu'elle se ramène à tout ou rien. On peut penser, en effet que contrôlée par des gènes majeurs, cette réaction est franche.

Malheureusement, nous observons la somme des trois effets et il est bien difficile et peut être arbitraire de séparer le troisième des deux premiers.

L'échelle utilisée pour la notation est la suivante :

0 : Immunité totale ou points noirs microscopiques.
1 : Rares taches *petites* à contour *très localisé :* la plante survit.
2 : Assez nombreuses taches *petites* à contour *assez bien localisé :* la plante survit.
3 : Assez nombreuses taches moyennes avec *zone d'accroissement* visible, *plus ou moins coalescentes :* la plante survit rarement.
4 : Nombreuses taches *étendues* et *coalescentes*, feuillage encore vert : mort dans les trois jours.
5 : Infection généralisée : plantes *mortes* à la notation.

Pour l'interprétation on a regroupé les notes et convenu de la signification suivante :

notes 3, 4, 5	sensibilité,
notes 0 et 1	résistance,
note 2	doute, rangé provisoirement dans les sensibles.

Alors que les variétés à réaction franche ont été éprouvées deux fois, les variétés ayant eu la note 2 ont été essayées jusqu'à 5 fois ; elles se sont en général classées de la même façon, donnant parfois la note 1, exceptionnellement la note 3.

III. — RÉSULTATS GLOBAUX

La distinction en « sensibles » et « résistants », définie plus haut, nous permet de séparer, vis-à-vis de chaque race, l'ensemble des variétés en deux groupes.

Cette subdivision dichotomique doit donc nous amener, si les résistances aux races *agissent indépendamment l'une de l'autre*, à 64 groupes élémentaires de variétés.

En réalité, on en a trouvé beaucoup moins, en grande partie à cause des résultats obtenus avec la race α_5.

1. *Cas particulier des résultats obtenus avec* α_5

La race α_5, isolée *in vitro* par HUBBELING, a le spectre d'attaque le plus large connu actuellement. Elle semble combiner les propriétés des groupes γ et δ, mais c'est une race faible, sa note d'attaque dépasse rarement 3.

La résistance à cette race a été trouvée 5 fois ; chaque fois, on a constaté également une résistance, non seulement aux cinq autres races de l'essai, mais également à toutes les autres races connues à Versailles.

Les cinq lignées résistantes à α_5 sont les suivantes :

Cornell 49-242
Mexique 175-1
Mexique 177-1
Mexique 222
Mexique 227-2

2. *Cas des résultats obtenus avec les cinq autres races*

Si l'on ne tient pas compte des résultats obtenus avec α_5, la subdivision dichotomique nous amène cette fois à 32 groupes représentant respectivement :

1 résistance quintuple
5 résistances quadruples
10 résistances triples
10 résistance doubles
5 résistances simples
1 résistance nulle

Le tableau 4 représente les 32 arrangements possibles et les 15 effectivement trouvés avec les effectifs de variétés correspondants. Dans ce tableau la résistance est figurée par une croix, la sensibilité par l'absence de croix.

La composition complète des groupes est donnée en annexe.

1. *Catégories absentes*

L'absence de certains groupes prouve que notre hypothèse d'indépendance d'action de « résistances élémentaires » est à rejeter.

a) *Relations entre résistance à α_1, PV_6 et I_4.*

Par rapport à ces trois races, il n'existe que quatre types de haricots :

	Groupes	*Effectifs*
	—	—
Sensibles aux 3 races	26, 30, 31, 32	309
Résistants à α_1	16, 24, 29	55
Résistants à α_1 et PV_6	6, 13, 14, 21	44
Résistants à α_1, PV_6 et I_4 ..	1, 2, 3, 7	22

La résistance à PV_6 seule n'existe pas, on ne la trouve qu'associée à la résistance à α_1.

De même, la résistance à I_4 est toujours associée à la résistance à PV_6 et à α_1.

Il semble donc qu'il existe dans ce cas trois niveaux successifs et complémentaires de résistance.

b) *Relations entre résistance à D_{10} et E_8b.*

Ce cas ressemble au précédent, si l'on écarte les catégories douteuses suivantes :

Groupe 3 : 1 variété notée 2 en moyenne avec D_{10}.
Groupe 14 : 1 variété notée 2 avec D_{10}.
Groupe 31 : 4 variétés notées 2 avec D_{10}.

Le reste se distribue ainsi :

	Groupes	*Effectifs*
	—	—
Sensibles aux deux races	7, 21, 29, 32	243
Résistants à D_{10}	2, 13, 24, 30	78
Résistants à D_{10} et E_8b	1, 6, 16, 26	103

TABLEAU 4

	I_4	PV_6	α_1	D_{10}	E_8b	Effectif observé
1	×	×	×	×	×	6
2	×	×	×	×		5
3	×	×	×		×	1 ?
4	×	×		×	×	0
5	×		×	×	×	0
6		×	×	×	×	13
7	×	×	×			10
8	×	×		×		0
9	×	×			×	0
10	×		×	×		0
11	×		×		×	0
12	×			×	×	0
13		×	×	×		8
14		×	×		×	1 ?
15		×		×	×	0
16			×	×	×	20
17	×	×				0
18	×		×			0
19	×			×		0
20	×				×	0
21		×	×			22
22		×		×		0
23		×			×	0
24			×	×		4 ?
25			×		×	0
26				×	×	64
27	×					0
28		×				0
29			×			31
30				×		61
31					×	4 ?
32						180

On constate donc que la résistance à E_3b n'existe qu'associée à la résistanceà D_{10}.

Pour tenir compte des catégories écartées, on doit ajouter que la résistance à E_8b est parfois accompagnée d'une résistance à D_{10} amoindrie.

Le faible effectif du groupe 24 pose également un problème.

c) *Hypothèses sur l'origine des races.*

On pense d'une façon générale que les races physiologiques peuvent dériver l'une de l'autre soit par mutation, soit par recombinaison. Même chez les champignons imparfaits, la recombinaison est possible par « parasexualité » (PONTECORVO, BUXTON).

D'après la façon dont se sont classées les résistances portées par les haricots en face des races utilisées, on a vraisemblablement séparé deux groupes de races apparentées :

le groupe A avec la série évolutive $\alpha_1 \rightarrow PV_6 \rightarrow I_4$.
le groupe B avec la série $D_{10} \rightarrow E_8b$

où les propriétés pathogènes vont en augmentant.

Ceci est en accord avec l'historique de la découverte des races ; on a en effet décrit dans l'ordre :

α et β (représentés dans l'essai par PV_6 et D_{10}), (BARRUS, 1918)
γ (E_8b) (BURKHOLDER, 1923)
δ (I_4) (WADE et ANDRUS, 1942.)

Sans doute à cause de sa faible virulence, α_1 n'a jamais été distinguée comme race indépendante avant 1962 (BLONDET), notons cependant que HUBBELING la considère comme une race α.

Les deux séries définies plus haut doivent être en réalité plus compliquées, nous n'en avons vu que quelques échantillons. D'autres races doivent pouvoir y prendre place et même constituer des recombinaisons à divers niveaux comme probablement α_5 ($E_8b + I_4$).

d) *Hypothèses sur le mécanisme de la résistance.*

Étant donné un couple de gènes A/*a*, on admet généralement que l'homozygote AA et l'hétérozygote A*a* synthétisent une substance qui fait défaut chez l'homozygote récessif *aa*.

Supposons que cette substance empêche la pénétration ou la croissance d'un parasite, la résistance qui en résultera nous apparaîtra dominante.

Si, au contraire, la substance est indispensable à la croissance du parasite, la résistance consécutive nous apparaît récessive.

Or, dans tous les cas où on a étudié l'hérédité d'une résistance du haricot à l'Anthracnose, on a trouvé que cette résistance était dominante : on peut donc penser que les phénomènes de résistance à l'Anthracnose résultent de l'action de substances dont la *présence* prévient l'invasion par le parasite.

Pour expliquer les niveaux successifs de résistance constatée précédemment, on pourrait penser à une série allélique. Cette hypothèse est infirmée par les résultats obtenus sur un croisement de haricots : *Widusa* × *Triomphe de Farcy*. Dans ce croisement, *Widusa* est résistant à D_{10} et E_8b, *Triomphe de Farcy* est sensible aux deux.

On a infecté séparément les lignées F_3 avec les deux races et on a vu qu'il n'y avait que trois types possibles de résistances fixables :

Résistance à D_{10} et E_8b
Résistance à D_{10}
Résistance nulle.

Comme précédemment, on n'a pas pu isoler la seule résistance à E_8b. En plus des deux types parentaux, on a obtenu le recombinant résistant à D_{10} ; résistance à D_{10} et résistance à $D_{10} + E_8b$ sont donc commandées par des gènes différents.

On peut faire sur la nature de cette résistance plusieurs hypothèses.

Il peut s'agir :

1° Soit d'une substance antagoniste spécifique (du type anticorps par exemple.)

2° Soit d'un facteur de modification de la perméabilité de la paroi cellulaire.

3° Soit d'un produit synthétisé au dépens d'un autre, indispensable à la croissance du parasite etc.

2. *Catégories existantes*

a) *Groupes à large résistance utilisables en amélioration.*

Avant la mise en évidence des races de type δ, le groupe 6 (avec la variété *Anthracnose Résistant* n° 22) a été utilisé en amélioration, en particulier par Schreiber qui en a tiré la série des variétés *Imuna. Grandimuna, Longimuna, Resista wachs, Grand resista,* se rangeant également dans le groupe 6.

Première variété connue du groupe 1 (mais attaquée par α_5) *Kievit Koekoek* a été utilisée en amélioration par certains sélectionneurs. Pourtant il existe parmi les groupes β et γ des races (autres que D_{10} et E_8d) qui l'attaquent violemment. Ceci nous montre qu'il existe d'autres races du type B capables d'attaquer *Kievit Koekoek,* ce qui diminue considérablement son intérêt comme géniteur.

Les cinq autres variétés du groupe 1, à la différence de la précédente, sont résistantes à α_5 et à toutes les races connues à Versailles jusqu'à présent.

La lignée *Cornell* 49-242, moins tardive et d'aspect moins sauvage que les autres, a un intérêt particulier comme géniteur.

De plus, alors que la résistance portée par *Anthracnose Résistant* n° 22 est due au moins à trois gènes différents (Schreiber, 1932), la résistance de *Cornell* 49-242 est conditionnée par un seul gène dominant actif contre toutes les races (Mastenbroek, 1960) (1).

b) *Confirmation de synonymies, de parentés ou de différences.*

Des réactions communes de résistance apportent une preuve supplémentaire de l'identité qu'il y a entre certaines origines portant des noms différents.

On a vraisemblablement, par exemple, *pour les lignées que nous avons utilisées :*

Canning King = U. S. Refugee = Oktoberli.
Hundra = Jaune cent pour un.

Inversement, on a pu différencier sans ambiguïté malgré leur similitude des variétés comme *Conserva* et *Favorit* par leur réaction différente avec la race PV_6.

Des généalogies connues ont été confirmées, par exemple *Furore, Probator, Luca, Widusa* présentent la même réaction de résistance à β et γ que *Princesse double de Hollande,* leur ancêtre commun. *Prélude,* autre descendant de cette variété n'en a gardé, par contre, que la résistance à β.

(1) Deux autres sources de résistance totale, non étudiées ici, car sortant du cadre de l'espèce doivent être citées : *Phasoelus aborigineus* (Rudorf, 1959) et *Phaseolus multiflorus* (certaines origines).

CONCLUSION

1° Ce travail a permis de mettre en évidence cinq sources intéressantes, car apparemment complètes, de résistance à l'Anthracnose.

2° En partant d'un de ces géniteurs, il semble inutile d'utiliser pour la sélection, en infection artificielle un mélange de très nombreuses races : théoriquement la seule race α_5 devrait suffire. Par prudence, il est néanmoins recommandé de travailler avec au moins un mélange de γ et δ.

3° D'un point de vue plus théorique, ce travail montre que les races d'Anthracnose semblent évoluer dans le sens d'une augmentation de virulence, probablement à la suite de la culture massive de variétés homogènes de plus en plus résistantes.

Annexe. — Composition complète des groupes

Les variétés constituant chaque groupe sont classées dans l'ordre alphabétique. Le nom de la variété est suivi :

1° de son origine (université, institut, station ou maison de graines),
2° des initiales du pays (excepté pour les origines françaises).,
3° de la date à laquelle l'échantillon a été reçu à Versailles.

Le nom de certaines origines a été parfois abrégé, la liste des abréviations utilisées est la suivante :

I. P. O.	Instituut Voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, (Pays-Bas).
I. I. A.	Instituto de Invetigaciones Agricolas, Mexico (Mexique).
M. P. I.	Max Planck Institut, Cologne (Allemagne).
C. T. C.	Centre Technique de la Conserve, Paris (France).
M .S. U.	Michigan State University, East Lansing (U. S. A.).
I. P. I.	Institut Plant Industry, Leningrad (U. R. S. S.).
D. E. I. P. A.	Division de Exploraciones e Introduccion de Plantas, Buenos-Aires (Rép. Argentine.)
I. C.	Instituto Cerealicoltura, Bologna (Italie).
E. E. P. M.	Estação Expérimental de Patos de Minas (Brésil).
I. V. T.	Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen, Wageningen (Pays-Bas).
C. I. A.	Centro de Investigaciones Agronomicas, Maracay (Venezuela).
I. N. R. A.	Institut National de la Recherche Agronomique, Versailles (France).
S. E. V. B. L.	South Eastern Vegetable Breeding Laboratory, Charleston (U. S. A.).
K. U.	Kaciceva Ulica, Zagreb (Yougoslavie).
C. U.	Cornell University, New York (U. S. A.).

Composition complète des groupes.

Groupe 1

Cornell 49-242	I. P. O. (P.-B.)	1956
Kievit Koekoek	I. P. O. (P.-B.)	1956
Mexique 175-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 177-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 222	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 227-1	I. I. A. (Mex.)	1955

Groupe 2

Kaboon	I. P. O. (P.-B.)	1956
Masterpiece	Ohlsen Enke (D K)	1955
Soissons nain gros pied nº 1	Simon	1957
Soissons nain hâtif nº 2	Camut	1955
Suisse nain blanc hâtif	Vilmorin	1955

Groupe 3

Coco à la crème	Clause	1954

Groupe 6

Anthracnose résistant nº 22	M. P. I. (D)	1952
Canadian Wonder	?	avant 1954
Emerson 847	I. P. O. (P-B.)	1956
Grandimuna	Schreiber (D.)	1957
Grandresista	Schreiber (D.)	1960
Imuna	Schreiber (D.)	1957
Longimuna	Schreiber (D.)	1957
Mexique 215	I. I. A. (Mex.)	1955
Princesse Suisse	Vatter (CH.)	1962
Prinzessa frühe herfordia	C. T. C.	1961
Resista wachs	Schreiber (D.)	1957
Sanilac	M. S. U. (U. S. A.)	1959
Soissons blanc à rames	Clause	1963

Groupe 7

Bo 22	I. P. O. (P.-B.)	1956
Canava 19	I. P. I. (U. R. S. S.)	1962
Canieu	?	avant 1954
Coco nain rose d'Eyragues	Vilmorin	avant 1954
Coco rose et blanc	Boret	avant 1954
Coco rose et blanc à petit grain	?	avant 1954
Cranberry	?	avant 1954
Kievit Bulten	I. P. O. (P.-B.)	1956
Kievit Cooten	I. P. O. (P.-B.)	1956
Suisse rouge sang de bœuf	?	avant 1954

Groupe 13

Blanc nain	Hamonet	1957
Borletto di Vigevano	D. E. I. P. A. (R. A.)	1962
Du Calaisis	Pucel	1945
Cannelino di Romagna	I. C. (I.)	1960
Lingot	Camut	1957
Lingot jaune nº 2	Vilmorin	1952
Perry Marrow	I. P. O. (P.-B.)	1956
Protector	Sluis frères (P.-B.)	1962

Groupe 14

Torrent d'or	Vilmorin	1962

Groupe 16

Alulathino paulista	E. E. P. M. (Br.)	1962
Burbank	? (Canada)	1961
Furore	I. V. T. (P.-B.)	1952
Hundra	Vilmorin	1952

Jaune cent pour un	Vilmorin	avant 1964
Jaune de la Drôme	Vilmorin	1952
Luca	Nunhem (P.-B.)	1961
Maracay 385	C. I. A. (Venez.)	1962
Maracay 642	C. I. A. (Venez.)	1962
Massy filant Régnier	Desgranges	1962
Michelite	I. P. O. (P.-B.)	1957
Nordstern	M. P. I. (D.)	1956
Plant introduction 202958	C. U. (U. S. A.)	1952
Probator	C. T. C.	1962
Princesse nain à grosse cosse	Clause	1957
Princesse nain double de Hollande	Clause	1954
Soissons nain vert	Simon	1960
Tardif de Kerfeunteun	Camut	1955
Très hatif de Massy	Vilmorin	1954
Widusa	C. T. C.	1952
		1957

Groupe 21

Alle Früheste Weisse	M. P. I. (D.)	1952
Alpha a grain blanc	Sluis en groot (P.-B.)	1955
Campanha	E. E. P. M. (Br.)	1962
Cascade à rames	Clause	1963
Christ	Vilmorin	1952
Corallo	I. C. (I.)	1960
Dark red Kidney	Keystone (U. S. A.)	1958
Domina	Laux (D.)	1956
Favorit	Van Waweren (D.)	1959
Golden Wax	Clause	1954
Improved Golden Wax	Northrup (U. S. A.)	1960
Kievkaja	I. P. I. (U. R. S. S.)	1962
Maracay 204	C. I. A. (Venez.)	1962
Nain extra hâtif	Vilmorin	avant 1954
Noir à longue cosse	Vilmorin	avant 1954
Paladin	Vilmorin	avant 1954
Préférent	Sluis frères (P.-B.)	1962
Primus sans fil	Fabre	1957
Saint-Esprit à œil rouge	Imbach	avant 1954
Top Notch Golden Wax	Asgrow (U. S. A.)	1955
Trepador Levante Hypoteca	E. E. P. M. (Br.)	1962
Wachs protecta	I. V. T. (P.-B.)	1952

Groupe 24

Blanc idéal sans fil	Blain	avant 1954
Flageolet blanc à longue cosse	Vilmorin	avant 1954
Rapide	Vilmorin	avant 1954
Roi des mangetouts à rames	Simon Louis	1963

Groupe 26

Aiguille vert	Boret	avant 1954
Alabaster	Vilmorin	1952
Amateur sans-fil	Sluis en Groot (P.-B.)	1955
Arroz du Chili	Ambassade d'Angleterre (G.-B.)	1959
Bactao Viana	E. E. P. M. (Br.)	1962
Blanc de juillet à rames	Clause	1963
Blanc nain amélioré	Vilmorin	avant 1964
Blanc précoce d'Alger	?	avant 1954
Bo 2	M. P. I. (D.)	1952
Bo 19	M. P. I. (D.)	1952
Chevrier	?	avant 1954
Clipper	? (Canada)	1961
Coco nain blanc	Boret	1955
Colonel à rames	Fabre	1963
Comtesse de Chambord à grain vert	Vilmorin	1952

Dauphin	Valtier	1957
Dixie White Stringless	Pucel	1956
Flageolet très hâtif d'Étampes	Clause	1955
Flageolet vert à rames	Fabre	1963
Flageolet vert Triomphe des Châssis	Vilmorin	1955
Fin de Montreux	Blain	avant 1954
Fèvette des Maraîchers	?	avant 1954
Flageolet vert Merveille de France	Vilmorin	avant 1954
Gourmandon	?	avant 1954
Great Northern U.I. 123	I. P. O. (P-B.)	1956
Inépuisable	Vilmorin	avant 1954
Jaune de Chalandray	Vilmorin	1952
Koks	? (Yougoslavie)	1960
Lapin	? (Canada)	1962
Lyonnais à longue cosse	Vilmorin	1952
Maracay 19	C. I. A. (Venez.)	1961
Maracay 199	C. I. A. (Venez.)	1965
Maracay 304	C. I. A. (Venez.)	1962
Maracay 371	C. I. A. (Venez.)	1962
Maracay 595	C. I. A. (Venez.)	1962
Mexique 107-38	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 149	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 152	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 169	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 181-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 183-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 187-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 189-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 206	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 219	I. I. A. (Mex.)	1955
Mangetout à cosses violettes à rames	Simon Louis	1963
Marandais	Vilmorin	1962
Multima	Vatter (CH.)	1961
Noir hatif de Châteaurenard	Clause	1957
Olsak	Vilmorin	1952
Perche bleue	?	avant 1954
Perfection blanc à rames	Clause	1963
Perfection noir à rames	Clause	1963
Phénomène à rames	Clause	1963
Prédome nain	Vilmorin	avant 1954
Princesse nain à petit grain sans fil	Pucel	1957
Princesse vert	?	avant 1954
Princesse type perle à rames	Clause	1963
Sabre blanc à très large cosse à rames	Simon Louis	1963
Sabre nain Étoile du Nord	Camut	1955
Sabre nain très hâtif de Hollande	Camut	1955
Soissons nain hâtif nº 1	Clause	avant 1954
Soissons vert à rames	Clause	1963
Wachs Quitlinga	Dippe (D.)	1961

Groupe 29

Beurre aiguille	Imbach	avant 1954
Beurre doré	?	avant 1954
Canning King	?	avant 1954
Coco bicolore du Pape à rames	Clause	1963
Coco Toulonnais nain	?	avant 1954
Delikat Weibull	Weibull's (S.)	1959
Flevo	Sluis frères (P.-B.)	1959
Florida belle	Keystone (U. S. A.)	avant 1954
Giant Stringless Green Pod	Ferry Morse (U. S. A.)	1958
Idaho refugee	Wagner (D.)	1952
Incomparable	Vilmorin	1951
Irène	Nunhem (P.-B.)	1962

Mexique 107-3-12	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 107-2-14	I. I. A. (Mex.)	1955
Michelet à longue cosse	Camut	1955
Michelet à rames	Clause	1963
Mistral	Vilmorin	1956
Nain du Mont-d'Or	Clause	1957
Noir d'Évian	Vilmorin	1952
Noir hâtif de Belgique	Clause	1957
Noir hâtif de l'Ermitage	Clause	1955
Nouvel Ermitage	Clause	1955
Oktoberli	Vatter (Ch.)	1962
Orus	Clause	1961
Processor	Ferry Morse (U. S. A.)	1960
Saint-Fiacre beurre à rames	Clause	1963
Sensation refugee	Rogers (U. S. A.)	1955
Servus	Simon	1960
Stim	Blondeau	1954
U.S. refugee	Wagner (D.)	1952
Walo	Van Waveren (D.)	1961

Groupe 30

Alpha	Sluis en Groot (P.-B.)	1955
Du Bouscat	?	avant 1954
Carlos favorit	Ohlsen Enke (Dk)	1952
Chevalier	Forget	1955
Chevrier Mangetout	Vilmorin	1958
Coco jaune de la Chine	Vilmorin	1952
Complet	Vilmorin	1955
Comtesse de Chambord	Vilmorin	avant 1954
Crussol	Tézier	1960
Delca	Sperling (D.)	1960
Della Vigna	I. C. (I.)	1960
Deuil fin précoce	Vilmorin	1952
Digoin	Vilmorin	avant 1954
Drabant	Weibull (Suède)	1959
Emerald refugee	Northrup (U. S. A.)	1958
Enfant de Mont-Calme	Caillard	1961
Erlo	Van Waweren (D.)	1961
Fiskeby	Vilmorin	1952
Flageolet blanc de Vitry	Vilmorin	1952
Flageolet blanc du Nord	Vilmorin	1953
Flageolet jaune à longue cosse	Camut	1955
Flageolet roi des verts	Clause	1957
Flageolet rouge	?	avant 1954
Gibouis	Vilmorin	1955
Gloire de Deuil	Vilmorin	avant 1954
Grignonnais	?	avant 1954
Jaune cent pour un à longue cosse	Vilmorin	1952
Lingot jaune nº 1	Lecouf Mailliet	avant 1954
Lyonnais clair à très longue cosse	Imbach	1957
Marché de Genève	Vilmorin	1957
Merveille de Paris	Vilmorin	1955
Merveille du marché	Vilmorin	1952
Meteor	Van Waweren (D.)	1961
Mexique 81-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 147	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique C 5-66	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique C 5-68-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Nain hâtif standard	Vilmorin	1952
Nec plus ultra	Hurst (G. B.)	1955
Prélude	Sluis frères (P.-B.)	1959
Princesse à rames	Simon Louis	1963
Prodige de Courtry	Moreau	avant 1954

Regina	Dippe (D.)	1961
Roi des Belges	Vilmorin	1957
Roi des beurres	Vilmorin	1955
Rocquencourt	Truffaut	1957
Saint-André sans fil	Vilmorin	1958
Simplo	Sluis frères (P.-B.)	1960
Smies Gribovoniana	Vilmorin	1952
Soissons nain gros pied à cosses marbrées	Camut	1957
Suisse d'Amiens précoce	Clause	1954
Sultan	Tézier	avant 1954
Surpasse Phénix	Blain	1957
Tenderpod	C. T. C.	1957
Tenderwhite	Rogers (U. S. A.)	1960
Ventre de biche	Vilmorin	1952
Versailles vert	I.N.R.A.	1957
Vilmorin vert	Vilmorin	avant 1954
Wachs Aurora	Hoffmann (D.)	1960
Wunderfein	Vatter (CH.)	1961
Zarthulse I	Sluis en Groot (P.-B.)	1962

Groupe 31

Mangetout à la crème	Vilmorin	1952
Mangetout du Maine à rames	Vilmorin	1957
Petit Braisin	Vilmorin	1952
Pinto	?	avant 1954

Groupe 32 (aucune résistance partielle)

Abondance	Tézier	1954
Alger noir nain	Vilmorin	1952
Anellino Screziato	I. C. (I.)	1960
Banane	Boret	1956
Bagnolais noir	Ribot	1958
Bayard	Vilmorin	1953
Beurre Bagnolais	Vilmorin	1961
Beurre Saumurois	Boret	1959
Du Bua	Vilmorin	1952
Brittle Wax	Rogers (U. S. A.)	1955
Le Brun	Vilmorin	1952
Cabanais hâtif	Gautier	1961
Cherokee	Asgrow (U. S. A.)	avant 1954
Cipro	? (Yougoslavie)	1960
Coco jaune du Canada	Clause	avant 1954
Coco le Méridional	Vilmorin	avant 1954
Coco blanc Gautier	Gautier	1959
Coco nain blanc précoce	Clause	1959
Coco Niçois	Clause	1954
Comète	Vilmorin	1952
Commodore Wonder	Keystone (U. S. A.)	1958
Conserva	Schreiber (D.)	1959
Contender	Lecouf Maillet	1958
De Corne	?	avant 1954
Corne d'Or	Vilmorin	1952
Corneli 14	Corneli (U. S. A.)	1955
Côte-d'Azur	Sève	1956
Crayon	Boret	1955
Dattel	Clause	avant 1954
Des Gagneries	Boret	1959
Le Drômois	Tézier	avant 1954
Dwarf Horticultural	Ferry Morse (U. S. A.)	1958
Earligreen	Rogers (U. S. A.)	1960
Earlywax	Rogers (U. S. A.)	1960

Empereur de Russie	Simon	1955
Extra fin du Perreux	Clause	1955
Fin de Bagnols	Pucel	1957
Fin de Linas	Tézier	avant 1954
Fin de Monclar	Vilmorin	1956
Fin des fins	Vilmorin	avant 1954
Fin de Villeneuve	Vilmorin	1956
Finfilet	Blondeau	1956
Flageolet à feuilles gaufrées	Clause	avant 1954
Flageolet blanc Baïonnette	?	avant 1954
Fullgreen	S. E. V. B. L. (U. S. A.)	1954
Giladeau	Giladeau	1958
Gloire d'Aubagne	Vilmorin	1954
Gloire d'Ollainville	Clause	1955
Gloire de Saumur	Boret	1954
Gloire de Saint-Rambert	Sève	1956
Granda	Schreiber (D.)	avant 1954
Gris deuil	Cayeux	1952
Groninger Weekschiel	I. V. T. (P. B.)	1954
Harvester	Asgrow (U. S. A.)	1961
Higrade	Rogers (U. S. A.)	1960
Hyscore	Woodruff (U. S. A.)	1955
Hsia Lia Hua Touza	Vilmorin	1952
Improved Supergreen	Rogers (U. S. A.)	1960
Improved Tendergreen	Rogers (U. S. A.)	1955
Incomparable hâtif	Boret	avant 1954
Ken Early	? (Canada)	1961
King Green	Woodruff (U. S. A.)	1955
Kinghorn	Pucel	1955
Landreth Green Pod	Ferry Morse (U. S. A.)	1953
Liseck	? (Yougoslavie)	1960
Longreen	Woodruff (U. S. A.)	1958
Masbenec	? (Yougoslavie)	1960
Maireau	Clause	1955
Mangetout 512	Sluis (P.-B.)	1690
Le Maraîcher	Camut	1957
Marcelin	Clause	avant 1954
Marché de Genève amélioré	Camut	avant 1954
Marché de Saumur	Boret	1954
Merveille du Forez	Sève	1955
Messidor	Péchaud	1957
Métis	Vilmorin	1957
Métis des Alliés	Imbach	1955
Métis noir a. l. c.	Vilmorin	1952
Métis tigré rouge et blanc	?	1954
Métis Victor Boret	Boret	avant 1954
Mexique C 423	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique C 5-72-1	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 5-84-2	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 146	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique 151	I. I. A. (Mex.)	1955
Mexique	I. I. A. (Mex.)	1955
Mondsichel	Vilmorin	1952
De Morionville	Simon	avant 1954
Nain à cosses violettes	Vilmorin	1952
Nain de Malabry	Vilmorin	avant 1954
Nain de tous les jours	Vilmorin	1952
Nain de Veitch	Vilmorin	1952
Nain gris maraîcher	Vilmorin	1952
Nain Idéal S. F.	Vilmorin	1955
Nain Miracle	Vilmorin	1952
Négus	?	avant 1954
Niski	K. U. (Yougoslavie)	1955
Noir à écosser de Chevilly	Vilmorin	1952

Noir de Valence	Bourget Sanvoisin	1958
Noir hâtif de Saumur	Boret	1952
Noir merveille du Marché	Vilmorin	1952
Nord Holland	?	avant 1954
Nova	Sperling (D.)	1959
Pearl Green	Northrup (U. S. A.)	1958
Pelandron	Vilmorin	1955
Pelandrone d'Albenga	I. C. (I.)	1960
Petit beurre	Tézier	1959
Petit potager	Vilmorin	avant 1954
Phénix	Clause	1957
Phénix brun	Imbach	1954
Phénix Claudia	Clause	1954
Plein le Panier	Vilmorin	1952
Plentifull	Vilmorin	1952
Précoce de Saumur	Boret	1954
Prodige de Valence		
Progrès	Tézier	1957
Puregold	Rogers (U. S. A.)	1955
Ranger	Pucel	1954
Record	Akarp (Suède)	1954
Régal fin	Vilmorin	1960
Régula	Wagner (D.)	1957
Roi de l'été	Vilmorin	1952
Roi des hâtifs a. c. violettes	Imbach	1954
Roi des marchés	Moreau	avant 1954
Rosafine	Truffaut	1962
Saint-Esprit à œil noir	Vilmorin	1952
Sans rival	Vilmorin	1955
Saxa	Clque	1955
Saxagold	Schreiber (D.)	1952
Sélecta	Mollath (D.)	1958
Seminole	Keystone (U. S. A.)	1955
Séréni	K. U. (Yougoslavie)	1955
Slendergreen	Rogers (U. S. A.)	1955
Slenderwhite	Rogers (U. S. A.)	1960
Solifare	Vilmorin	1952
Stella SP.	Sperling (D.)	1956
Stortinogiallo	I. C. (I.)	1960
Succès	Denaiffe	1954
Succulent Delbard	Delbard	1957
Sulphur	Keystone (U. S. A.)	1960
Superdeuil	Vilmorin	1952
Supermétis	Vilmorin	1952
Superproduction	Sève	1955
Supervert	Vilmorin	1954
Superviolet clair	Ribot	1958
Superviolet foncé	Ribot	1957
Surecrop	Hamonet	1957
Suzanne	Camut	1955
Svalof's Ahle Bona	? (Suède)	1953
Tellini	I. C. (I.)	1960
Tenderbest	Ferry Morse (U. S. A.)	1957
Tendercrop	Rogers (U. S. A.)	1960
Tendergreen	Clause	1957
Tendergreen 32-304	Rogers (U. S. A.)	1960
Tenderlong	Pucel	1956
Tézier d'Or	Tézier	1960
Tézier sensation	Tézier	1959
Top Crop	Asgrow (U. S. A.)	1956
Top Most	Asgrow (U. S. A.)	avant 1954
Transvaal	Clause	avant 1954
Triomphe de Farcy	Camut	1957
Triumph	Ohlsensenke (D. K.)	1954

Universal	Hoffmann (D.)	1960
Unrivalled	?	1960
Valentine rouge	Clause	avant 1954
La Victoire	Tézier	1954
Wachs Rheinland	Hoffmann (D.)	1960
Wade	Ferry Morse (U. S. A.)	1958
Wadex	Rogers (U. S. A.)	1960
White Seeded Tendergreen	Woodruff (U. S. A.)	1958
Yellow eyed	? (Canada)	1961
Yl 547	K. U. (Yougoslavie)	1955
Yl 549	K. U. (Yougoslavie)	1955
Yl 550	K. U. (Yougoslavie)	1955
Yl 552	K. U. (Yougoslavie)	1955
Zagreb	K. U. (Yougoslavie)	1955
Zagreb Acki Rami	K. U. (Yougoslavie)	1955
Zarthulse II	Sluis en Groot (P.-B.)	1961
Zénith	Vilmorin	1956

Reçu pour publication en décembre 1964.

SUMMARY

THE RESULTS OF INFECTION OF A COLLECTION OF BEANS BY SIX PHYSIOLOGICAL STRAINS OF ANTHRACNOSE

Four hundred and thirty varieties of bean, for the most part in the form of pure lines, were separately infected with six different clones of anthracnose (see Tables 1, 2, 3, and fig. 1).

The beans were cultivated in sand, in 30 × 30 cm dishes under a polyethylene cover (fig. 2).

The anthracnose was cultured in Roux bottles, on a slight modification of the medium of Mathur, Lilly and Barnett.

Infection was carried out after 5 or 6 days of culture of the parasite and 7 days of culture of the bean. The temperature was about 20°C, and a filtered spore suspension was sprayed into the plants.

The results were marked from 0 to 5 (see fig. 3 and 4) and were then regrouped into « susceptible » (3, 4 and 5) and « resistant » (0 and 1), a certain number of doubtful reactions was assigned the mark 2.

The results obtained with the strain alpha 5, of wide spectrum, were considered separately. The results obtained with the other five strains show that of the 32 groups of varieties representing the 32 arrangements of possible elementary resistances, only 15 were found, of which 4 were doubtful (see table 4).

It is thus possible that some strains derive from each other by enrichment of their pathogenic power: on this basis two families were established.

Five apparently complete sources of resistance to anthracnose were shown, among which is *Cornell 49,242*, already known and used in plant-breeding.

ZUSAMMENFASSUNG

ERGEBNISSE DER INFEKTION VON BOHNEN MITTELS SECHS PHYSIOLOGISCHER ANTHRAKNOSERASSEN

Vier hundert dreizig Bohnensorten, die meisten in Form von reinen Linien, wurden einzeln mit sechs verschiedenen Anthraknoseklonen infiziert (s. die Tabellen 1, 2, 3 und Abb. 1).

Die Bohnen wurden in Töpfen 30 × 30 cm, auf Sand und unter Schutz-Gittern aus Polyethylen angebaut (s. Abb. 2).

Die Anthraknose wurde in Flaschen von Roux auf leicht modifizierten Mathur, Lilly und Barnett-Milieu gezüchtet.

Nach 5 oder 6 Tagen Schädlingskultur und 7 Tagen Bohnenkultur bei ungefähr 20°C wurde die Infektion durch Bespritzen mit einer filtrierten Sporenaufschwemmung erreicht.

Die Beurteilung wurde von 0 bis 5 bonitiert (s. Abb. 3 und 4) und die Ergebnisse wurden anschliessend als « empfindlich » (Noten 3, 4 und 5) und « widerstandsfähig » (Noten 0 und 1) umgruppiert, doch blieb eine gewisse Zahl von Reaktionen zweifelhaft.

Die, die Rasse alpha 5 mit breiten Spektrum betreffenden Ergebnisse, wurden gesondert betrachtet.

Die, mit den fünf anderen Rassen erzielten Ergebnisse, zeigen, dass von den 32 Sortengruppen, welche die 32 möglichen elementaren Widerstandstypen darstellen, nur 15 aufgefunden wurden, worunter 4 zweifelhaft sind (s. Tabelle 4).

Dies führte zu der Vorstellung von voneinander durch Bereicherung ihres krankheitserregenden Vermögens abstammender Rassen : Zwei Familien konnten auf diese Weise gebildet werden.

Das Vorhandensein von fünf offenbar vollständigen Widerstandsquellen gegen die Anthraknoes wurde bewiesen. Darunter befand sich die schon bekannte und zu Verbesserungszwecken verwendete Sorte : *Cornell 49.242*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDRUS C. F., WADE B. L., 1942. The factorial interpretation of Anthracnose resistance in beans. *U. S. D. A. Tech. Bull.*, **810**, 29 pp.

BARRUS M. F., 1911. Variation of varieties of beans in their susceptibility to Anthracnose. *Phytopathology*, **1**, 190-195.

BARRUS M. F., 1915. An Anthracnose-resistant red kidney bean. *Phytopathology*, **5**, 303-311.

BARRUS M. F., 1918. Varietal susceptibility of beans to strains of *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. and MAGN.) B and C. *Phytopathology*, **8**, 589-614.

BLONDET A., 1963. *Étude des races physiologiques françaises du* Colletotrichum lindemutianum. Thèse Fac. Sci. Paris Orsay, 160 p.

BONING K., 1926. Über die Empfänglichkeit von *Phaseolus vulgaris* für *Colletotrichum lindemuthianum.* im Lichte der Rassenbildung des Krankheits-erregers. *Forsch. Geb. Pflanzenkrankf.*, **2**, 1-18.

BUDDE A., 1928. Über Rassenbildung parasitischer Pilze unter besonderer Berücksichtigung von *Colletotrichul lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) BRI et CAV. in Deutschland. *Forsch. Geb. Pflanzenkrankft*, **5**, 115-147.

BURKHOLDER W. H., 1918. The production of an Anthracnose-resistant white marrow bean. *Phytopathology*, **8**, 353-359.

BURKHOLDER W. H., 1923. The gamma strain of *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) B. et C. *Phytopathology*, **13**, 316-323.

BUXTON E. W., 1956. Heterocaryosis and parasexual recombination in pathogenic strains of *Fusarium oxysporum*. *J. Gen. Microbiol.*, **15**, 133-139.

FRANDSEN N. O., 1953. Zur physiologischen Spezialisierung von *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) BRI et CAV. *Z. Pflanzenkrankh*, **60**, 113-125.

GABRYL J., 1959. (Tolérance des variétés de Haricot (*Phaseolus vulgaris*) à l'Anthracnose. *Colletotrichum lindemuthianum* (SACC. & MAGN.) SCRIB. essais préliminaires) (Pol.). *Biu Inst. Hodwoli Aklimat. Roslin*, **1** (34), 41-47.

HUBBELING N., 1957. New aspects of breeding for disease resistance in beans (*Phaseolus vulgaris*). *Euphytica*, **6**, 111-141.

ISARLISHVILI S. I., 1940. On the degree of susceptibility of various varieties of beans to Anthracnose (*Colletotrichum lindemuthianum* BRI. and CAV.) in the georgian SSR. (rés. angl.). *Izv. Gruzinsk Opytn. Stauts. Zasnch. Rast. Ser. A. Fitopath.*, **2**, 227-252.

MAC ROSTIE G. P., 1919. Inheritance of Anthracnose resistance as indicated by a cross between a resistant and a susceptible bean. *Phytopathology*, **9**, 141-148.

MASTENBROEK C., 1960. A breeding programme for resistance to Anthracnose in dry shell haricot beans based on a new gene. *Euphytica*, **9**, 177-184.

MATHUR R. S., BARNETT H. L., LILLY V. G., 1950. Sporulation of *Colletotrichum lindemuthianum* in culture. *Phytopathology*, **40**, 104-114.

MESSIAEN C. M., 1955. Sur quelques Anthracnoses des plantes cultivées. *Ann. Épiphyties*, 285-299.

PEUSER H., 1931. Fortgesetzte Untersuchungen über das Rorkommen biologischer Rassen von *Colletotrichum lindemuth.* (SACC. & MAGN.) BRI. et CAV. *Phytopathol. Z.*, **4**, 83-112.

PONTECORVO G., 1958. *Trends in genetic analysis.* New York Colombia University Presse, 145p.

SCHREIBER F., 1932. Resistenzüchtung bei *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathol. Z.*, **4**, 415-454.

YERKES W. D., jr., ORTIZ M. F., 1956. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Mexico. (Abstract). *Phytopathology*, **46**, 546-567.

ZADOCKS J. C., 1959. On the formation of physiologic races in plant parasites. *Euphytica*, **8**, 104-116.

ZAUMEYER W. J., THOMAS H. R., 1957. A monographic study of bean diseases and methods for their control. *U. S. D. A. Tech. Bull.*, **868**, 255 pp.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, (**15**) 2, 223-235.

LA POLLINISATION DES VARIÉTÉS DE CERISES DOUCES (*PRUNUS AVIUM*)

Georgette SANFOURCHE

Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,
Centre de Recherches agronomiques du Sud-Ouest, Pont-de-la-Maye (Gironde)

SOMMAIRE

Les possibilités d'interpollinisation de vingt-deux variétés de cerises douces ont été étudiées. Les dix cultivars les plus importants ont été interpollinisés systématiquement.

Pour les douze autres variétés, on rechercha de préférence des pollinisateurs d'un intérêt cultural certain.

Trois groupes de compatibilités ont été trouvés concernant sept variétés.

Deux de ces groupes ont pu être rattachés aux groupes anglo-saxons.

Le classement chronologique des époques de floraison des variétés étudiées permet de déduire des informations de pollinisation pratique.

INTRODUCTION

L'autostérilité des cerises douces (Guignes et Bigarreaux, genre *Prunus avium*) a été depuis longtemps mise en évidence et attribuée à l'auto-incompatibilité (GARNER, 1913, CRANE, 1923).

Une variété déterminée ne peut être fécondée par son propre pollen. Les notions d'intercompatibilité et d'interincompatibilité sont alors apparues.

Les études histologiques dans les pistils en cours d'autopollinisation et d'interpollinisation incompatible ont permis de montrer l'inhibition de la germination du pollen par le tissu du style (CRANE, 1927).

Parallèlement, une interprétation génétique en était donnée.

CRANE et BROWN (1937) ont mis en évidence, sur le cerisier diploïde, l'intervention des gènes S de stérilité, comparables à ceux découverts sur *Nicotiana* (EAST et MANGELSDORF, 1925), plus tard, sur *Œnothera*, par LEWIS et CROWE, et sur de nombreuses autres plantes.

Une série polyallélique, S_1, S_2... S_n permet d'expliquer l'autostérilité, l'interincompatibilité et l'intercompatibilité. La pollinisation ne peut être efficace qu'entre allèles différents de ce gène. Par exemple, les variétés porteuses des allèles S_1S_2 ne pourront être fécondées que par S_3S_4 ou S_1S_3 (par le gamète porteur de S_3 seulement).

CRANE et BROWN identifièrent six allèles du gène S.

L'étude de la fréquence des allèles S dans une vaste population de cultivars de *Prunus avium* (125 variétés) montra la fréquence privilégiée de trois des allèles : l'allèle S_3 est présent dans 65 p. 100 des variétés, S_1 dans 50 p. 100, et S_2 dans 30 p. 100. Le diallèle S_1S_3 est le plus fréquent.

Il fut ainsi constaté que ces trois allèles étaient génétiquement liés aux caractères les plus favorables au point de vue amélioration. Le choix de l'explication n'a pas été fait entre une action pléïotropique ou un linkage étroit.

Une autre direction d'étude a, par ailleurs, abouti à trouver la mutation fertile S_f du gène S de stérilité de *Prunus avium* (de même que sur *Œnothera*).

La présence du gène S_f entraîne la compatibilité et affecte le pollen ou le tissu du style. Cette mutation est rarement spontanée et n'est peut-être pas toujours facile à détecter. Mais l'irradiation expérimentale du pollen au cours des premières phases de la méïose peut la provoquer (de même sur œnotère).

La variété traitée a ainsi pu être autofécondée ; les plants issus de cette variété sont à leur tour autofertiles, porteurs du gène S_f et peuvent le transmettre et donner de nouveaux hybrides autofertiles.

Par ailleurs, d'après les simples techniques d'autopollinisation et de pollinisation croisée, de nombreux auteurs ont établi des listes de variétés intercompatibles et interincompatibles dans les différents pays de culture du Cerisier.

Un grand nombre de cultivars étrangers ont été ainsi classés en groupes de compatibilités. Dans un même groupe sont réunies les variétés interincompatibles entre elles (même formule génique relative aux allèles S). La compatibilité est possible entre variétés appartenant à des groupes différents. Chacun des groupes de compatibilité réunit au moins deux variétés, souvent plusieurs.

Un nombre différent de groupes fut trouvé dans les divers pays qui ont publié leurs listes comportant, évidemment, des variétés différentes.

M. B. Crane et ses collaborateurs ont défini 12 groupes et, un certain nombre de variétés ne s'étant montrées incompatibles avec aucune autre variété, ils les désignèrent sous le nom de « donneurs universels », formant en quelque sorte un groupe de groupes élémentaires réduits à une seule variété. Appliquant la théorie de la série allélomorphe du gène S, ils donnèrent l'interprétation de 9 de ces groupes avec 6 allèles.

F. Kobel, en Suisse, réussit à grouper au moins deux par deux toutes les variétés qu'il étudia et arriva ainsi à 17 groupes.

Divers autres pays classèrent leurs variétés selon le même principe. Peu de variétés communes à ces différentes listes permettent de rassembler ces données.

En ce qui concerne les variétés cultivées en France, quelques-unes figuraient dans certains de ces groupes, mais les pollinisateurs indiqués correspondaient rarement à des variétés françaises. Pour les variétés les plus cultivées actuellement, nous manquons totalement de renseignements.

Nous nous sommes attachés à chercher les intercompatibilités des principales variétés françaises entre elles et, autant que possible, à les classer dans les groupes déjà publiés. Nous avons également cherché des pollinisateurs pour des variétés de moindre importance culturale.

TECHNIQUES D'ÉTUDE ET VARIÉTÉS ÉTUDIÉES

Les recherches de compatibilités se firent uniquement par la méthode directe de pollinisation contrôlée.

Des boutons floraux proches de la floraison furent castrés et pollinisés soit aussitôt après la castration, soit 20 à 48 heures plus tard, selon le dispositif d'isolement adopté.

Pour la préparation du pollen, on préleva des anthères non déhiscentes dans des boutons

floraux encore fermés. Après un séjour de 24 à 48 heures dans un dessiccateur à chlorure de calcium, le pollen est prêt à être employé au pinceau. La valeur germinative des pollens fut vérifiée *in vitro* sur milieu de gélose à 0,8 p. 100 avec 12 p. 100 de saccharose.

L'isolement avait lieu soit par ensachage de rameaux, soit par la mise complète de l'arbre femelle sous cage d'isolement. Les pourcentages de fructification renseignent sur l'intercompatibilité. Nous avons considéré comme intercompatibles les croisements qui donnaient plus de 10 p. 100 de fructification, notée peu de temps avant la maturité.

Pour les associations compatibles, une ou deux répétitions nous parurent suffisantes, pourvu que les pourcentages soient établis sur un assez grand nombre de fleurs.

Pour les associations incompatibles, la vérification se poursuivit pendant cinq à six années, c'est-à-dire parfois jusqu'à neuf fois, compte tenu de la réciprocité des compatibilités et des incompatibilités ; le plus souvent, deux mille à trois mille fleurs furent pollinisées pour chacune de ces combinaisons. Dans ces cas de variétés interincompatibles, il ne fut jamais constaté plus de 0,9 p. 100 de fructification.

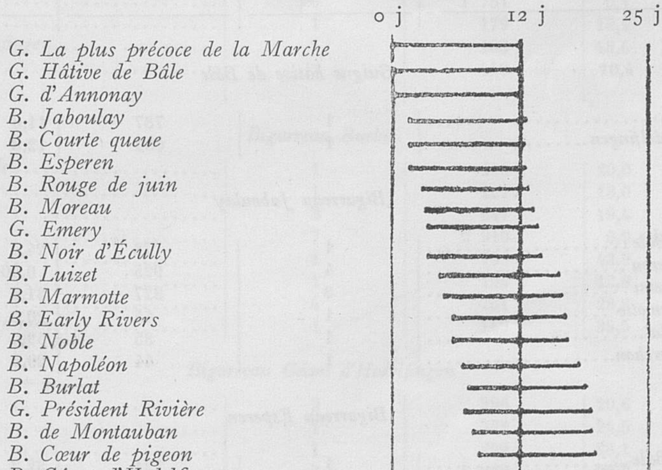
On pourra remarquer que les pourcentages de fructification des croisements compatibles apparaissent comme étant assez variables, soit d'environ 10 p. 100 à près de 60 p. 100. Il n'y a pas lieu d'y voir un gradient de qualité pollinisatrice de certaines variétés vis-à-vis d'autres, mais plutôt la résultante de la productivité de la variété femelle et surtout des modalités de la pollinisation contrôlée.

L'isolement dans une cage, en particulier, fournit des pourcentages toujours plus élevés, car la fécondation, à l'inverse du cas de l'ensachage, n'intervient que deux jours après la castration et permet de vérifier et d'éliminer les fleurs dont le pistil a été détérioré lors de la castration. La température y est en outre plus élevée et accélère la vitesse d'élongation du tube pollinique.

Liste des variétés étudiées.

Nos essais ont porté sur 22 variétés, soit 10 variétés dites de grand intérêt cultural et 12 variétés d'intérêt local ou secondaire. En voici la liste générale, par ordre chronologique de date de floraison (moyenne de cinq années d'observations à Bordeaux, et renseignements notés deux années consécutives par les Services agricoles du Gard chez trois cerisiculteurs et par M L. BOUCHERAND à Saint-Désirat, Ardèche).

COMPARAISON DE L'ÉPOQUE DE FLORAISON DE VINGT-DEUX VARIÉTÉS DE CERISIERS



0 j : début floraison de la variété la plus précoce ;
12 j : fin floraison de la variété la plus précoce.

On voit que les périodes de floraison sont assez échelonnées. Il faudra en tenir le plus grand compte pour tirer des données d'intercompatibilité des conclusions d'interpollinisation effective.

Dans l'exposé des résultats, nous énumérons le plus souvent les variétés selon l'ordre chronologique de leur floraison.

INTERPOLLINISATION DE DIX VARIÉTÉS DE GRANDE CULTURE

Pour ces dix variétés, dont la culture est très répandue dans les diverses régions françaises, nous avons recherché systématiquement toutes les combinaisons possibles.

Un faible nombre de croisements n'a pu, cependant, être réalisé. Cela concerne surtout les variétés dont les dates de floraison sont trop différentes : par exemple, *Bigarreau Reverchon*, qui fleurit très tard, avec *Guigne hâtive de Bâle*, à floraison très précoce. Ce croisement ne présente qu'un intérêt théorique.

Pour d'autres combinaisons, nous avons pu faire des déductions d'après le comportement d'une variété donnée avec l'une de deux variétés interincompatibles entre elles ; on en déduit un comportement identique avec l'autre variété.

Enfin, les données bibliographiques nous ont fourni quelques indications.

Résultats des essais

Variété pollinisatrice	Nombre d'essais	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
		Guigne hâtive de Bâle	
B. Napoléon..................	1	787	11,0
B. Géant d'Hedelfingen..................	1	652	12,8
		Bigarreau Jaboulay	
G. Hâtive de Bâle..................	1	78	24,5
Bigarreau Esperen..................	4	925	0,001 Incompatibilité
Bigarreau Moreau..................	3	327	31,1
Bigarreau Marmotte..................	1	45	20,0
Bigarreau Burlat..................	1	85	59,0
Bigarreau Reverchon..................	1	44	29,5
		Bigarreau Esperen	
G. Hâtive de Bâle..................	1	121	32,2
B. Jaboulay..................	5	877	0,001 Incompatibilité
B. Moreau..................	1	74	17,5
B. Marmotte..................	1	138	25,7
G. Early Rivers..................	1	75	22,6
B. Burlat..................	1	39	33,3

Résultats des essais (suite)

Variété Pollinisatrice	Nombre d'essais	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification	
	Bigarreau Moreau			
G. Hâtive de Bâle	1	251	13,5	
G. Early Rivers	1	123	23,5	
B. Napoléon	1	326	14,4	
B. Burlat	2	85	0	Incompatibilité
B. Géant d'Hedelfingen	1	360	17,2	
B. Reverchon	1	40	20,0	
	Bigarreau Marmotte			
G. Hâtive de Bâle	1	418	19,3	
B. Jaboulay	3	549	24,6	
B. Esperen	1	246	16,7	
B. Moreau	1	450	30,6	
G. Early Rivers	2	472	25,6	
B. Napoléon	3	757	0,9	Incompatibilité
B. Géant d'Hedelfingen	1	104	10,5	
	Guigne Early Rivers			
G. Hâtive de Bâle	3	612	20,2	
B. Esperen	1	200	15,0	
B. Moreau	3	437	28,8	
B. Burlat	1	94	12,7	
B. Géant d'Hedelfingen	1	116	13,9	
	Bigarreau Napoléon			
B. Esperen	1	207	14,5	
B. Moreau	1	129	10,8	
B. Marmotte	6	1 751	0,4	Incompatibilité
B. Burlat	1	179	18,4	
B. Géant d'Hedelfingen	1	188	43,6	
B. Reverchon	2	440	10,4	
	Bigarreau Burlat			
G. Hâtive de Bâle	1	190	20,0	
B. Esperen	1	222	18,0	
B. Jaboulay	3	647	19,4	
B. Moreau	7	2 910	0,9	Incompatibilité
B. Marmotte	1	706	43,9	
G. Early Rivers	1	195	12,8	
B. Napoléon	4	751	28,8	
B. Géant d'Hedelfingen	1	169	35,5	
	Bigarreau Géant d'Hedelfingen			
B. Esperen	2	296	20,6	
B. Marmotte	1	338	24,5	
B. Burlat	1	299	28,1	
B. Reverchon	3	1 319	20,2	
	Bigarreau Reverchon			
B. Géant d'Hedelfingen	1	91	11,0	

Nous avons rencontré, on le voit, relativement peu d'interincompatibilités, ce qui représente une probabilité normale et très en accord avec les indications bibliographiques.

Les interincompatibilités constatées sont les suivantes ;

Bigarreau Marmotte est incompatible avec *Bigarreau Napoléon ;*
Bigarreau Esperen est incompatible avec *Bigarreau Jaboulay ;*
Bigarreau Burlat est incompatible avec *Bigarreau Moreau.*

La réciprocité a été vérifiée, aussi bien pour les intercompatibilités que pour les interincompatibilités.

Ceci nous permet de dresser un tableau d'interpollinisation ; pour une utilisation pratique, il faut assortir les indications de pollinisation d'un classement de floraison.

Le tableau I résume les intercompatibilités. Les variétés y sont classées par époque de floraison de plus en plus tardive. De ce fait, les associations de variétés recommandées pour l'interpollinisation effective sont celles pour lesquelles le signe + est situé dans le voisinage de la diagonale de ce tableau.

TABLEAU I

Possibilités d'interpollinisation des variétés de cerises douces

+ Intercompatible
– Interincompatible
[hachuré] Zone de pollinisation effective concordance de l'époque de floraison
(a) *D'après données bibliographiques*
(1) *Déduit de l'incompatibilité Esperen x Jaboulay*
(2) *d° Marmotte x Napoléon*
(3) *d° Burlat x Moreau*

Echelle de floraison → ↓

	G. Hâtive de Bâle	B. Jaboulay	B. Esperen	B. Moreau	B. Marmotte	G. Early Rivers	B. Napoléon	B. Burlat	B. Géant d'Hédelfingen	B. Reverchon
G. Hâtive de Bâle										
B. Jaboulay	+									
B. Esperen	+	–								
B. Moreau	+	+	+							
B. Marmotte	+	+	+	+						
G. Early Rivers	+	+ (a)	+	+	+					
B. Napoléon	+	+	+	+	–	+ (a)				
B. Burlat	+	+	+	–	+	+	+			
B. Géant d'Hedelfingen	+	+ (a)	+	+	+	+	+	+		
B. Reverchon		+	+ (1)	+	+ (2)		+	+ (3)	+	

Les combinaisons (1) (2) (3) n'ont pas été réalisées mais déduites de la compatibilité avec l'autre variété du groupe.

Exemple : nous avons constaté la compatibilité de *B. Reverchon* avec *B. Jaboulay*. Nous en déduisons que *B. Reverchon* est également compatible avec *B. Esperen*, puisque *B. Jaboulay* et *B. Esperen* sont incompatibles entre eux (même formule génique relative à l'allèle S).

INTERPOLLINISATION DE QUELQUES VARIÉTÉS D'INTÉRÊT CULTURAL SECONDAIRE

Pour quelques variétés d'intérêt cultural local ou des variétés d'amateurs, nous n'avons pas cherché systématiquement les intercompatibilités mais plutôt les possibilités pratiques d'interpollinisation.

Dans ce but, nous avons choisi, de préférence, d'éventuels pollinisateurs parmi les variétés les plus cultivées. Nous avons également recherché quelques éléments de classement dans les groupes connus, comme il sera expliqué au chapitre suivant. Nous donnons ici les résultats de ces croisements pour simplifier leur présentation.

La disparité des croisements effectués ne permet pas de dresser un tableau systématique. C'est pourquoi nous classons les variétés expérimentées et, pour chacune d'elles, les pollinisateurs, par ordre de floraison croissante, notant d'un astérisque les associations recommandées en tenant compte des concordances de floraison.

Nous avons réalisé les croisements des variétés à étudier par les pollinisateurs recherchés (croisements directs) et inversement croisé les variétés pollinisatrices par les pollens des variétés à étudier (croisements réciproques, en raison de la réciprocité des comportements).

Résultats des essais

a) *Croisements directs*

Variété pollinisatrice	Nombre d'essais	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
Guigne la plus précoce de la Marche			
*G. *Hâtive de Bâle*	1	152	23,0
*G. *d'Annonay*	1	300	12,0
*B. *Jaboulay*	1	59	15,2
G. *Early Rivers*	2	363	13,7
B. *Napoléon*	1	310	13,6
B. *Géant d'Hedelfingen*	1	131	11,4
Bigarreau court Picou ou Courte Queue			
*G. *d'Annonay*	1	137	15,4
*B *Jaboulay*	1	293	14,6
*B. *Moreau*	1	296	26,7
G. *Early Rivers*	1	325	14,4
B. *Noble*	1	131	10,7
B. *Napoléon*	1	138	20,3
Bigarreau noir d'Écully			
B. *Jaboulay*	1	106	16,0
*B. *Marmotte*	1	108	25,9
*B. *Moreau*	1	282	20,2
*G. *Early Rivers*	1	83	15,6
B. *Burlat*	1	262	40,0

Résultats des essais (suite)

Variété pollinisatrice	Nombre d'essais	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
Bigarreau Luizet			
G. d'Annonay	1	188	29,2
B. Jaboulay	1	20	30,0
**B. Marmotte*	2	330	10,3
**B. Noble*	1	137	24,8
**B. Napoléon*	1	226	20,0
B. Governor Wood	1	199	17,5
Guigne Emery			
**B. Marmotte*	1	166	10,0
**G. Early Rivers*	1	79	15,1
B. Napoléon	1	154	20,0
Guigne Président Rivière			
**B. Burlat*	1	117	10,2
**B. Napoléon*	1	180	10,5
Bigarreau de Montauban			
B. Marmotte	1	78	15,3
B. Noble	1	70	22,8
**B. Burlat*	1	139	21,5
**B. Géant d'Hedelfingen*	1	34	23,4
Bigarreau Cœur de Pigeon ou Gros Cœuret			
G. d'Annonay	1	154	10,4
B. Jaboulay	1	92	11,9
**G. Early Rivers*	1	190	10,0
Bigarreau Gustave Dupau			
G. d'Annonay	1	101	11,8
B. Jaboulay	1	121	10,7
G. Early Rivers	1	64	10,9
**B. Noble*	1	196	13,2
**B. Napoléon*	1	93	10,0
**B. Géant d'Hedelfingen*	2	486	17,6

b) *Croisements réciproques*

Variété pollinisatrice	Nombre d'essais	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
Bigarreau Jaboulay			
**G. la plus précoce de la Marche*	2	163	32,5
**B. Rouge de juin*	1	52	0 Incompatibilité
**B. Emery*	2	474	20,6
B. Luizet	1	81	20,0
B. de Montauban	1	23	26,0
Bigarreau Marmotte			
G. la plus précoce de la Marche	1	341	22,2
**B. Rouge de juin*	1	237	39,4
**B Court Picou*	1	323	22,2
**G. Emery*	1	125	61,6

Résultats des essais (suite)

Variété pollinisatrice	Nombre d'essais	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
	Guigne Early Rivers		
G. la plus précoce de la Marche	1	73	13,7
B. Rouge de juin	1	232	22,0
B. Court Picou...........................	1	82	10,0
**G. Emery*	2	241	17,4
**B. Luizet*	1	197	13,7
B. de Montauban..........................	1	460	44,1
	Bigarreau Burlat		
B. Rouge de juin	1	363	22,8
**G. Emery*	1	172	26,7
	Bigarreau Napoléon		
B. Rouge de juin	2	720	15,0
**B. de Montauban*.........................	1	18	33
	Bigarreau Géant d'Hedelfingen		
G. la plus précoce de la Marche	1	358	27,3
G. Emery	1	614	30,6
B. Luizet	1	86	13,9
**B. Cœur de Pigeon*	1	108	12,0
**B. Gustave Dupau*	1	35	14,2

DÉTERMINATION DE GROUPES

Dans un but de simplification des conclusions de nos recherches, nous voudrions classer les variétés françaises dans des groupes de compatibilités comme d'autres pays l'ont fait pour leurs variétés.

Mais, parmi toutes les pollinisations effectuées, aussi bien sur les variétés principales, systématiquement, que sur les variétés secondaires sur un plan plus limité et plus pratique, nous n'avons trouvé que peu d'incompatibilités.

Grâce à ces interpollinisations, nous ne pouvons envisager que trois groupes restreints :

— un groupe de deux variétés, *Bigarreau Marmotte* et *Bigarreau Napoléon*,

— un groupe de trois variétés, *Bigarreau Jaboulay, Bigarreau Esperen* et *Bigarreau rouge de juin* (probablement),

— un groupe de deux variétés, *Bigarreau Burlat* et *Bigarreau Moreau*.

Or, *B. Jaboulay* et *B. Napoléon*, dont la culture a depuis longtemps dépassé nos frontières, ont été classés — en particulier — dans les listes anglo-saxonnes.

Cela nous permet de classer *B. Marmotte* avec *B. Napoléon*, dans le groupe III, formule S_3S_4, et *B. Esperen* et *B. rouge de juin*, avec *B. Jaboulay*, dans le groupe X — définis par CRANE.

Le groupe de *B. Burlat* et *B. Moreau* ne peut être aussi facilement rattaché aux groupes d'autres auteurs à l'aide de ces seules données. C'est pourquoi nous avons essayé la pollinisation de *Bigarreau Burlat* et de quelques autres variétés, avec un représentant de chacun des groupes anglo-saxons.

Dans nos collections, nous n'avons pu, cependant, disposer de variétés pollinisatrices que pour 10 des 12 groupes anglo-saxons.

Groupes	Variétés pollinisatrices utilisées
I	*Guigne Early Rivers*
II	*Merton Bigarreau et Merton Bounty*
III	*B. Napoléon et B. Lambert*
IV	*Merton Premier*
VI	*Governor Wood et Merton Heart*
VII	*B. Géant d'Hedelfingen*
IX	*Ursula Rivers*
X	*Bigarreau Jaboulay*
XI	*Guigne d'Annonay*
XII	*Bigarreau Noble et Caroon* A.

Seulement un groupe allemand était représenté, par *Kassins Frühe*, du groupe 3.

Nous voyons que quatre de ces variétés :

Guigne Early Rivers	Groupe I
Bigarreau Napoléon	Groupe III
B. Géant d'Hedelfingen	Groupe VII
Bigarreau Jaboulay	Groupe X,

sont très cultivées en France et qu'à ce titre les résultats de leurs croisements avec les autres variétés plus exclusivement françaises ont déjà été exposés.

Puisque quatre groupes ont été ainsi essayés, nous allons indiquer ci-dessous les croisements avec les autres représentants de groupes.

Ces essais montrent que nous n'avons trouvé aucune autre interincompatibilité.

Résultats des essais

Variété pollinisatrice	Groupe	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
Guigne Hâtive de Bâle			
Usrula Rivers	IX	75	17,3
G. d'Annonay	XI	812	27,4
B. Noble	XII	838	12,0
III *Bigarreau Marmotte* (pour vérification)			
G. d'Annonay	XI	153	11,7
Kassins Frühe	3	174	28,7

Résultats des Essais (suite)

Variété pollinisatrice	Groupe	Nombre de fleurs	Pourcentage de fructification
	Bigarreau Moreau		
G. d'Annonay	XI	350	16,0
Bigarreau Noble	XII	268	8,8 (à rapprocher de *Burlat* × *Noble*).
	Bigarreau Burlat		
Merton Bounty	II	270	19,6
Merton Premier	IV	508	52,5
Merton Heart	VI	201	27,2
Governor Wood	VI	71	21,1
Guigne d'Annonay	XI	156	19,7
Bigarreau Noble	XII	180	25,5
Kassins Frühe	3	176	65,9
	Bigarreau rouge de juin		
Bigarreau Noble	XII	175	9,1
	III *Bigarreau Lambert*		
Bigarreau Burlat		331	42,0
	IX *Ursula Rivers*		
Bigarreau Burlat		786	20,9
	XI *Guigne d'Annonay*		
B. Reverchon		141	36,1
B. Rouge de juin		490	28,3
Guigne Emery		558	23,6
	XII *Bigarreau Noble*		
B. Reverchon		154	32,4
	XII *Caroon* A		
Bigarreau Burlat		276	34,4
	3 *Kassins Frühe* (pour vérification)		
Bigarreau Marmotte	III	145	28,2

Pour la plupart des variétés, nous n'avons essayé qu'un nombre restreint de représentants de groupes :

pour *Guigne Hâtive de Bâle*, les groupes I, III, VII, IX, X, XI, XII.
pour *B, Reverchon*, les groupes I, III, VII, X, XI, XII.
pour *B. Burlat* et *B. Moreau*, tous les groupes, sauf V et VIII.
pour *G. la plus précoce de la Marche*, les groupes I, III, VII, X, XI.
pour *Bigarreau Court Picou*, les groupes I, III, X, XI, XII.
pour *Bigarreau Luizet*, les groupes I, III, VI, VII, X, XI, XII.

pour *Bigarreau noir d'Écully*, les groupes I, III, X.
pour *Guigne Emery*, les groupes I, III, VII, X, XI.
pour *Guigne Président Rivière*, le groupe III.
pour *Bigarreau de Montauban*, les groupes I, III, VII, X, XII.
pour *Bigarreau Cœur de Pigeon*, les groupes I, VII, X, XI.
pour *Bigarreau Gustave Dupau*, les groupes I, III, VII, X, XI, XII.

Nous pouvons donc dire que ces variétés n'appartiennent pas aux groupes envisagés.

Nous avons vu qu'il nous a été possible de classer deux de nos variétés parmi les douze groupes définis par CRANE :

Bigarreau Marmotte, dans le groupe III,
Bigarreau Esperen, et probablement *B. rouge de juin* dans le groupe X.

Nous pouvons indiquer la liste des autres variétés anglo-saxonnes des groupes III et X. D'après ces données, *Bigarreau Marmotte* se trouverait interincompatible avec *Bigarreau Napoléon*, *Bigarreau Emperor Francis* et *Guigne Ironsides* A.

Bigarreau Esperen est interincompatible avec *Bigarreau Jaboulay*, *Black Tartarian* D et *Ramon Oliva*.

CONCLUSION

Nous avons trouvé trois groupes d'interincompatibilités parmi les 22 variétés françaises étudiées, intéressant 7 variétés.

Nous avons pu rattacher deux de ces groupes aux listes anglo-saxonnes.

Toutes les autres variétés se sont montrées intercompatibles entre elles et avec tous les pollinisateurs essayés. Elle n'ont pu être classées en groupes ni rattachées aux groupes anglo-saxons. Mais il n'est pas du tout certain qu'elles appartiennent toutes à l'un des douze groupes.

Il faudrait essayer la compatibilité avec chacun des « donneurs universels », ce qui pourrait, en cas d'incompatibilité, créer de nouveaux groupes. Il serait rationnel aussi de ne pas se limiter aux listes anglo-saxonnes. Vu le nombre de variétés de cerisiers dans les divers pays tempérés, un tel travail est inépuisable.

Les données exposées ici apparaissent donc comme une contribution partielle à l'établissement de ces groupes.

Sur le plan de l'interpollinisation des variétés françaises entre elles, il est possible d'indiquer les associations culturales recommandables, en considérant à la fois les tableaux de compatibilités et les classements d'époques de floraison.

Reçu pour publication en décembre 1964.

SUMMARY

THE POLLINATION OF VARIETIES OF SWEET CHERRY (« PRUNUS AVIUM »)

Interpollination among twenty-two varieties of sweet cherry (*Guignes* and *Bigarreaux*) was studied. The ten most important cultivars were used in all the experiments.

Three groups of compatibilities were found, which related to seven varieties. Two of the groups could have been connected with the Anglo-Saxon groups. Information on practical pollination can be deduced from the chronological classification of the flowering times of the varieties studied.

ZUSAMMENFASSUNG

DIE BESTÄUBUNG VON SÜSSKIRSCHENSORTEN (« PRUNUS AVIUM »)

Die Möglichkeiten einer Zwischenbestäubung wurden an zweiundzwanzig Süsskirschensorten (Süss- und Kerzkirschen) untersucht.

Die zehn wichtigsten « Kultivars » kamen in sämtlichen Untersuchungen zur Anwendung.

Für sieben Sorten wurden drei Selbstverträglichkeitsgruppen festgestellt. Zwei dieser Gruppen konnten an angelsächsische Gruppen angegliedert werden. Das chronologische Ordnen der Blütezeiten der untersuchten Sorten erlaubt die Aufstellung von Amweisungen für eine praktische Bestäubung.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BALDINI E., 1955. Contributo allo studio delle cultivar di ciliegio della provincia di Firenze. I. Notizie storiche a ricerche sulla biologia florale. *Rev. Ortoflorofrutticoltura Ital.* **39**, 105-131.

BEVILACQUA I., 1953. Osservazioni ed indagini sulla autosterilità del ciliegio in provincia di Modena. *Isp. prov. Agric. Modena*, p. 25,.

BROWN A. G. Non publié.

CRANE M. B., 1923. Report on tests of self-sterility and cross-incompatibility in plums, cherries and apples. *J. Pom. and Hort. Sci.*, **3**, 76-84.

CRANE M . B., 1927. Studies in relation to sterility in plums, cherries, apples and raspberries. *Mem. Hort. Sci. New York*, **31**, 119-134.

CRANE M. B., BROWN A. G., 1937. Incompabibility and sterility in the Sweet cherry, *Prunus avium. J. Pomol. and Hort. Sci.*, **15**, n° 2, 86-116.

GARNER V. R., 1913. A preliminary report on the pollination of the Sweet cherry. *Bull. Oregon Agric. Coll.*, 116.

GREENHALGH W. J., 1962. Cherry pollination. New varieties in revised recommandations. *Agric. Gaz. of New South Wales*, **73**, part. 6 : 284-86 et 318.

GRUBB N. H., 1948. A seasonal influence on cherry pollination and ripening. *Ann. Rep. East Malling Res. Sta.*, **131**.

HRUBÝ K., 1962. Compatibility relations in some sweet cherry cultivars. *Biologia Plantarum* **4** (1), 60, p. 54-60.

KOBEL F., 1954. *Lehrbuch des Obstbaus auf Physiologischer Grundlage.* Berlin, 1954. p. 173, 177.

LEWIS D. et CROWE L. K., 1954. Structure of the incompatibility gene. IV. Types of mutations in *Prunus avium* L. *Heredity*, **V.8**, P. 3., 357-63, tabl., bibl.

MANARESI A., 1953. Ricerche sull' impollinazione del ciliegio col metodo normale e col metodo « *spur-unit* ». *Riv. Frutticolt* **3**, pp. 169-182, illust. tabl.

MIEDZYRZECKI Ch., 1934. La Pollinisation chez le Cerisier. *Terre marocaine*, 22 pp.

MORETTINI A., 1934. Contributo allo studio dell impollinazione nel albicocco e nel ciliegio. *Italia Agricola*, **71** (12), 10 pp. illust., bibl., 9.

NEVKRYTA A. N., 1957. Distribution of apiaries for pollinating cherries. *Pehelovodstvo*, **34** (4) 34-8.

RAPTOPOULOS T., 1941. Pollen tube growth studies in cherries. *J. Genetics.*, vol. 42, 73-89.

SHOEMAKER J. S., 1928. Cherry pollination studies. *Bull. Ohio Agric., Exp. Sta.*, **422**.

VON VAHL E., 1955. Der Kirschenansatz im Alten Land 1955. *Mittelungen des Obstbauversuchsringes des Alten Landes.* **6**, 154-57.

WILLIAMS W. et BROWN A. G., 1956. Genetic response to selection in cultivated plants : gene frequencies in *Prunus avium. Heredity*, **10**, P. 2, pp. 236-45.

WILLIAMS W. et BROWN A. G., 1960. Breeding new varieties of fruit trees. *Endeavour*, **19**, 147-155.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (2), 237-240.

NOTE SUR L'HÉRÉDITÉ DE LA RÉSISTANCE DE NEUF VARIÉTÉS DE BLÉ TENDRE A *ERYSIPHE GRAMINIS* D. C.

C. GOUJON

Avec la collaboration technique de J. P. JOSSET

Station centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

Neuf blés tendres résistants à l'Oïdium sont croisés entre eux ; par analyse de disjonctions F_2 pour la réaction à ce parasite, deux gènes de résistance dominants et un gène de résistance récessif sont mis en évidence.

INTRODUCTION

Grâce à la mise au point d'une méthode d'infection et de notation des plantules de blé tendre en serre, publiée précédemment, il a été possible de déceler, parmi les variétés étudiées, des géniteurs résistants à l'Oïdium ; leur utilisation dans un programme d'amélioration vis-à-vis de ce parasite nécessitait, en premier lieu, une étude du comportement génétique de la résistance. Nous donnons ci-après les résultats obtenus.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Les variétés suivantes ont été utilisées comme géniteurs résistants à l'Oïdium :

— *Lontoï*, blé d'origine finlandaise.

— *Graecum*, blé d'origine russe.

— sept hybrides complexes, en provenance des États-Unis, tous apparentés à la série des blés *Kenya* et désignés sous les numéros 41, 43, 89, 141, 351, 376, 481.

Les neuf géniteurs considérés ont été croisés l'un par l'autre et les F_2 obtenues ont été cultivées en champ pendant l'année 1962-63.

Les semences F_2, pendant l'hiver 1963-64, ont été semées en serre, par origines F_1 distinctes, à la température de 16°C sous un éclairement de 16 h par 24 h. Les plantules F_2 au stade « une feuille » ont subi une infection artificielle d'Oïdium, l'inoculum originaire des pépinières de comportement ayant été multiplié en serre sur la variété *Little Club*. Les réactions à l'Oïdium permettent de répartir les plantules en deux classes : sensibles et résistantes, les conditions de milieu ne permettant pas de distinguer différents degrés dans la sensibilité.

Les trente-cinq croisements effectués n'ont pas tous été utilisés, l'analyse de onze d'entre eux ayant suffi à préciser le déterminisme génétique des résistances.

RÉSULTATS

Les répartitions en plantes résistantes et plantes sensibles, observées sur les descendances F_2 des onze croisements analysés, sont consignées dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Disjonctions d'hybrides en F_2 pour la réaction à l'Oïdium

F2 (1)	classe (2)	41 × 43	43 × 89	89 × 141	141 × 351	351 × 376	376 × 481	*Lontoï* × *Graecum*	*Lontoï* × 41	*Lontoï* × 141	*Graecum* × 89	*Graecum* × 376
1	R	61	60	62	48	70	75	51	66	41	70	59
	S	—	—	—	—	3	—	7	19	5	15	13
2	R	60	60	62	59	78	77	55	69	34		61
	S	—	—	—	—	—	—	5	13	8		14
3	R	61	58	59	50	76	74	52	62	28		
	S	—	—	—	—	—	—	6	14	14		
4	R	54	63	60	56	72	62	54	67	33		
	S	—	—	—	—	—	—	7	12	6		
5	R	62	61	60		74	70	56	59	39		
	S	—	—	—		—	—	4	11	10		
6	R	60	60			74		55	76	34		
	S	—	—			—		3	8	8		
7	R	69	62					55	58	40		
	S	—	—					3	15	10		
8	R	58	61					46	68	30		
	S	—	1					5	14	9		
9	R	61	60					56	69	56		
	S	—	—					1	18	12		

(1) Les F_2 sont étudiées par origines F_1 distinctes, numérotées de 1 à *n* pour chaque croisement.
(2) Classes : R = nombre de plantes résistantes
S = nombre de plantes sensibles.

INTERPRÉTATION

a) Les différentes F_2 de chacun des cinq croisements *Lontoï* × *Graecum*, *Lontoï* × 41, *Lontoi* × 141, *Graecum* × 89, *Graecum* × 376, sont respectivement homogènes quant à leur réaction à l'Oïdium (tabl. 2).

b) La F_2 *Lontoï* × *Graecum* se disjoint selon la proportion de 15 plantes résistantes-1 plante sensible (tabl. 2), ce qui indique que chacun de ces deux géniteurs possède un gène de résistance dominant.

TABLEAU 2

Analyse des disjonctions des hybrides en F_2

Croisement	Homogénéité des F_2 d'un croisement			Disjonctions 15 — 1			Disjonctions 13 — 3		
	dl(1)	χ^2cal(2)	P(3)	*dl*	χ^2cal	P	*dl*	χ^2cal	P
Lontoï × *Graecum*	8	6,77	50-70	1	2,32	10-20			
Lontoï × 41	8	7,17	50-70				1	3,14	10-05
Lontoï × 141	8	6,51	50-70				1	0,25	50-70
Graecum × 89	—	—					1	ε	> 95
Graecum × 376	1	1,20	20-30				1	ε	> 95

(1) *dl* : degrés de liberté ;
(2) χ^2cal : χ^2 calculé.
(3) : probabilité correspondant au χ^2 calculé.

c) Les F_2 *Lontoï* × 41, *Lontoï* × 141, *Graecum* × 89, *Graecum* × 376 se disjoignent selon la proportion de 13 plantes résistantes-3 plantes sensibles. Sachant donc que les variétés *Lontoï* et *Graecum* possèdent chacune un gène de résistance dominant, ces résultats indiquent que les variétés 41, 141, 89, 376 possèdent un gène de résistance récessif.

d) Les plantes F_2 des croisements 41 × 43, 43 × 89, 89 × 141, 141 × 351, 351 × 276, 376 × 481 sont uniformément résistantes (tabl. 1) ; les sept hybrides américains ont donc en commun le même gène de résistance récessif.

CONCLUSIONS

La variété *Lontoï* possède un gène de résistance dominant « R_1 », la variété *Graecum* un gène de résistance dominant « R_2 ». les sept hybrides américains un gène de résistance récessif « r_3 » l il n'a pas été observé d'interaction entre ces gènes.

La valeur culturale des géniteurs considérés laisse beaucoup à désirer dans nos conditions de milieu et de culture ; d'autre part le déterminisme génétique des résistances à l'Oïdium de ces géniteurs est simple. En conséquence, la méthode des croisements en retour apparaît comme la meilleure pour introduire dans le patrimoine héréditaire de nos blés la résistance à l'Oïdium qui leur manque. Il est probable que la mise en culture de blés résistants à ce parasite provoquera des changements biotypiques, d'où la nécessité de rechercher de nouvelles sources de résistance.

Reçu pour publication en décembre 1964.

SUMMARY

NOTE ON THE HEREDITY OF THE RESISTANCE OF NINE VARIETIES OF SOFT WHEAT TO « ERYSIPHE GRAMINIS » D. C.

Nine mildew-resistant soft wheat varieties were intercrossed; by analysis of the F_2 disjunctions for the reaction to this parasite, two dominant resistance genes and one recessive resistance gene were demonstrated.

ZUSAMMENFASSUNG

UEBER DIE VERERBUNG DES WIDERSTANDES GEGEN « ERYSIPHE GRAMINIS » D. C. VON NEUN WEIZENSORTEN

Neun gegenüber Oïdium widerstandsfähige Weizensorten wurden untereinander gekreutzt. Durch Prüfung von Chromosomentrennungen F_2 hinsichtlich der Reaktion gegenüber dieses Schädlings, wurden zwei Gene als dominantresistent und ein Gen als rezessivresistent festgestellt.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

NOVER-SCHLICHTING, 1941. Untersuchungen über den Weizenmehltau, *Erysiphe graminis tritici* im Rahmen der Resistenzüchtung. *Z. Pflanzenz.* XXIV, **1**, 71-103.

GOUJON C., 1961. Recherches préliminaires à l'étude de la résistance du blé tendre à l'Oïdium (*Erysiphe graminis* D. C.). Mise au point de la technique d'étude sur plantule en serre. *Ann. Amélior. Plantes,* **11**, 375-377.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (2), 241-242.

CHRONIQUES DES LIVRES

MAINIE (P.). — AVENIR DE L'ÉCONOMIE FRUITIÈRE. TOME I. PRODUIRE ET VENDRE. Paris, G. M. Perrin, 1963, 141 p.

Après avoir, dans son avant-propos, affirmé que les préoccupations techniques des arboriculteurs cèdent le pas devant les soucis économiques, et que l'ampleur des problèmes économiques à résoudre reste étrangère à la plupart des producteurs, l'auteur, économiste à l'I. N. R. A., présente comme suit le tome I.

« Cet ouvrage est destiné non seulement aux arboriculteurs, mais aussi à ceux des techniciens et économistes qui sont amenés à les conseiller. Il contient des raisonnements théoriques, qui ne peuvent être totalement étrangers aux praticiens. S'ils veulent conserver une claire vision de leur avenir, ils doivent connaître la signification profonde des réalités dans lesquelles ils se trouvent plongés.

Avant tout essai d'analyse des décisions, il faut disposer d'une méthode. Dans le chapitre I, nous précisons comment appliquer la théorie de la firme à l'arboriculture. Au chapitre II, des critères de mesure sont définis, en se plaçant au niveau de la parcelle.

L'un des premiers outils de gestion est la comparaison. Aussi a-t-il paru utile de définir des « normes », des modèles de référence, caractérisant chaque type de verger. Tel est l'objet des chapitres III, IV et V. Si l'arboriculteur se trouve dans une situation analogue à celle qui est décrite, il pourra mesurer les marges de progrès qu'il peut encore parcourir.

On dispose maintenant des outils élémentaires pour mesurer l'incidence des décisions concernant l'avenir. Il faut partir d'une description globale de l'entreprise (chap. VI), permettant de situer où l'on en est, pour imaginer quelles sont les orientations susceptibles de convenir.

S'il s'agit de décisions simples, la méthode des budgets (chap. VII) rendra de grands services. S'il s'agit de choix aussi fondamentaux que ceux des plantations fruitières, une méthode plus perfectionnée est nécessaire. Nous exposerons un exemple d'emploi des programmes linéaires au chapitre VIII.

Enfin, le choix de la dimension optimale de l'entreprise détermine la politique d'investissement à suivre dans l'avenir. Nous montrerons au chapitre IX que la détermination de la taille la meilleure des vergers ne peut être séparée de celle du gabarit de la station fruitière. Les décisions de gestion concernant ces deux types de firme sont intimement liées.

Nous aborderons par ce biais le problème de la politique commerciale. Le chapitre X est consacré aux modifications survenues dans la concurrence et aux conséquences qui en résultent pour les arboriculteurs. L'extension des groupements de vente en commun ouvre des possibilités nouvelles dans ce domaine. »

KNIGHT (R. L.). — ABSTRACT BIBLIOGRAPHY OF FRUIT BREEDING AND GENETICS TO 1960. « MALUS » AND « PYRUS ». Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops, East Malling (G.B.), Technical communication n° 29, 535 p. 1963.

Cette bibliographie groupe 2 318 analyses de publications parues entre 1900 et 1960 sur la génétique, la cytologie, l'amélioration des Pommiers et des Poiriers, classées par ordre alphabétique des auteurs.

Un index des matières complète cette publication qui constitue un précieux instrument de travail pour les chercheurs et les sélectionneurs.

ROBBINS (W. W.), WEIER (T. E.), STOCKING (C. R.). — BOTANY, AN INTRODUCTION TO PLANT SCIENCE. 3rd ed. New-York, London, Sydney, John Wiley and Sons, inc., 1964, 614 p.

La 3e édition de *Botany* est un ouvrage de présentation attrayante abondamment illustré, et que les étudiants auxquels il est destiné auront plaisir à consulter ; le langage en est clair et chaque terminologie nouvelle est définie à partir de mots simples et connus de tous.

Les changements apportés dans cette 3e édition ont porté sur la biologie moléculaire, les aspects chimiques, physiques et morphologiques de la cellule, la photosynthèse et la respiration, l'hérédité, les schizophites (bactéries, algues bleues et vertes), les virus, l'écologie. Le texte est complété par de nombreuses photographies faites au microscope électronique et des schémas simples. Cet ouvrage comporte 30 chapitres traitant de la morphologie, de la physiologie, de la systématique botanique ; un glossaire de termes techniques, donnant leur étymologie, vient le compléter utilement.

J. L.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ;— *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *sommaire :* résumé suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction,* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *résumé* destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très *complet* placé en tête de l'article. Les figures graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc. l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de : et *al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatres langues mentionnées) ; le titre du périodique en abrégé, selon la World List of Scientific Periodicals, ou le Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapître cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit.

Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur feuille séparée, et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5. *soit* × 0,25

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 16 × 24 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront deux épreuves à corriger. Les corrections « d'auteur » ne sont autorisées que sur le premier jeu d'épreuves.

Envoi du manuscrit : M. MAYER, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise) France. On demande deux exemplaires.

Le Directeur-Gérant : M. L. CAGNAC

Impression Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 13-7-1965.

Dépôt légal : 3e trimestre 1965. No d'impression : 1666

ANNALES
DE
L'AMÉLIORATION
DES
PLANTES

VOLUME 15 1965 NUMÉRO 3

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE
149, rue de Grenelle - PARIS-7e

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs et de l'Institut national de la Recherche agronomique, à l'exception des sommaires et résumés.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (3), 243-261.

ANALYSE CYTOGÉNÉTIQUE D'HYBRIDES ENTRE *HELIANTHUS TUBEROSUS* ET *H. ANNUUS*. CONSÉQUENCES EN MATIÈRE DE SÉLECTION

Yvonne CAUDERON

avec la collaboration technique de Bernadette SAIGNE et Madeleine CHANCEL

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques du Massif Central,
Clermont-Ferrand (Puy-de-Dôme)

SOMMAIRE

L'analyse cytogénétique de F_1 entre *H. tuberosus* et *H. annuus* permet de mettre en évidence deux types de comportement méiotique : un type à faible asyndèse, qui rentre dans le cadre des hypothèses de KOSTOFF (génomes At_1 At_2 Bt pour *H. tuberosus* et B_a pour *H. annuus*), et un type présentant une forte asyndèse. La comparaison de ces résultats avec ceux de HEISER pour l'ensemble du genre *Helianthus* permet de supposer que les associations multivalentes observées chez les F_1 *H. tuberosus* × *H. annuus* résultent à la fois de la présence de translocations et d'une homologie très faible entre les génomes A et B. Les possibilités d'évolution et d'utilisation de ces F_1 sont discutées à la lumière de cette hypothèse.

I — INTRODUCTION

Parmi les très nombreuses espèces qui constituent le genre *Helianthus*, beaucoup sont cultivées comme plantes ornementales ; deux seulement, et pour des raisons bien différentes, présentent un intérêt agricole : le Tournesol (*H. annuus* L.) et le Topinambour (*H. tuberosus* L.).

D'après HEISER (1957, 1961 *a*, et *al.*, 1955), les *Helianthus* ont pour centre d'origine le Mexique. De là, ils se seraient dispersés dans toute l'Amérique où ils occupent, de nos jours, une aire de distribution géographique disjointe avec environ cinquante espèces localisées en Amérique du Nord (Canada, États-Unis, nord du Mexique) et dix-sept espèces limitées à la région tropicale des Andes (sud de la

Colombie et du Pérou). Leur unique nombre de base, $n = 17$, pourrait être un nombre secondaire et dériver, par allopolyploïdie, d'un croisement entre une espèce du genre voisin *Viguiera* ($n = 8$) et une autre espèce inconnue à $n = 9$. L'hypothèse d'une origine diphylétique des *Helianthus* permettrait d'expliquer à la fois leur aire de répartition discontinue, leur complexité, leur variabilité, et les affinités de certains d'entre eux avec les *Viguiera*.

Heiser (1961 *c*, et *al.*, 1962) répartit les quelque soixante-dix espèces de ce genre extrêmement complexe entre trois groupes bien distincts. Les deux premiers sont limités à l'Amérique du Nord, le troisième à la zone tropicale de l'Amérique du Sud.

Groupe I (1)

Il comprend une douzaine d'espèces annuelles, ou pérennes à racine pivotante, toutes diploïdes et généralement auto-incompatibles. Du point de vue génétique, elles sont assez bien isolées les unes des autres. Elles se croisent aisément entre elles, mais leurs hybrides ont une fertilité réduite et présentent quelques irrégularités méiotiques. Ces espèces dérivent vraisemblablement d'un même ancêtre dont le génome (B) se serait différencié par suite de remaniements structuraux ; elles ne diffèrent en fait que par quelques translocations (Heiser, 1961 *a*, et *al.*, 1962). D'autres barrières d'isolement, géographiques ou écologiques, ont d'ailleurs renforcé ce processus de spéciation. Bien que l'on connaisse des hybrides naturels et quelques exemples d'introgression (Stebbins et *al.*, 1961, Heiser, 1961 *b*), et en dépit d'une extrême variabilité entraînant parfois un chevauchement des espèces, celles-ci constituent cependant des « unités systématiques » assez bien définies. *H. annuus* est la plus largement distribuée et la plus variable de ce groupe ; c'est d'ailleurs une espèce très anciennement cultivée.

Groupe II (2)

Ce groupe comprend une quarantaine d'espèces pérennes, capables de se maintenir par voie végétative (rhizomes, tubercules, etc.) et généralement auto-incompatibles, qui forment un complexe polyploïde (2*x*, 4*x*, et 6*x*).

1° Les espèces diploïdes, les plus nombreuses (25 à 30), sont pour la plupart sympatriques et, d'une manière générale, génétiquement assez mal isolées l'une de l'autre. Leurs hybrides présentent une méiose assez régulière et n'accusent qu'une très faible réduction de fertilité par rapport aux parents (Heiser et *al.*, 1962). Cependant, bien que les hybrides naturels soient nombreux — et ils le sont d'autant plus que la culture en a favorisé l'apparition en perturbant la répartition naturelle de certaines espèces (Long, 1955 *b*, Jackson, 1956) — la plupart des espèces constituent des unités morphologiques bien distinctes, du fait de l'adaptation de certaines d'entre elles à un milieu déterminé, et de différences dans la précocité de floraison. Ces barrières d'isolement semblent avoir joué un rôle important dans la différenciation (les remaniements structuraux sont rares), mais elles ne semblent pas toujours très

(1) Nous ne mentionnons ici que les publications récapitulatives. Pour une étude détaillée de ce groupe, on pourra également se reporter aux publications d'Heiser signalées dans les références bibliographiques (1947, 1949 *a* et *b*, 1951 *a* et *b*, 1954, 1956, 1958, 1961 *d*).

(2) Pour ce groupe également, on pourra consulter les publications donnant les études détaillées des divers hybrides entre diploïdes pérennes (Jackson et Guard 1955, 1957 *a* et *b*; Long 1957, 1963 ; Smith et Guard 1958 ; Smith et Martin 1959).

efficaces et d'autres facteurs encore assez mal connus doivent être intervenus également pour empêcher l'amalgame des espèces (*cf.* HEISER et *al.*, 1962, LONG, 1959).

Selon JACKSON (1955) et LONG (1955 *a*, 1960) cet ensemble doit pouvoir se réduire à quelques espèces polytypiques (*ecospecies*) constituées d'un certain nombre d'écotypes morphologiquement bien différenciés. Ces espèces dériveraient d'un même ancêtre, dont le génome (A) n'aurait subi que de très légères modifications structurales.

2° L'origine des polyploïdes est plus difficile à retracer. Les tétraploïdes proviendraient directement des diploïdes pérennes et seraient autotétraploïdes $\frac{(AA)}{(AA)}$ ou allotétraploïdes segmentaires $\frac{(A_1A_2)}{(A_1A_2)}$ (SMITH, 1961, JACKSON, 1963) Quant aux hexaploïdes, ils doivent s'être formés à la suite de croisements entre tétraploïdes pérennes et diploïdes annuels (HEISER, 1961 *b* et *c*) ; mais on n'a pas d'exemples d'hybrides naturels de ce type, exception faite d'une « variété » horticole, *H.* × *multiflorus*, sur laquelle nous reviendrons.

Le statut spécifique des polyploïdes, et particulièrement celui des hexaploïdes est extrêmement difficile à établir (CLEVENGER et *al.*, 1963) : il n'y a pas d'espèces à proprement parler, mais un complexe avec toutes les formes de passage entre des types extrêmes. Cet « amalgame » a pu se produire aisément dans la nature du fait de l'absence de barrières d'isolement : tous ces types sont interfertiles, sympatriques et écologiquement beaucoup moins exigeants que les diploïdes. Dans ce cas encore, l'évolution naturelle s'est trouvée grandement perturbée par l'intervention de l'homme.

C'est au groupe des hexaploïdes qu'appartient *H. tuberosus*. De même qu'*H. annuus*, c'est une espèce variable et de culture très ancienne.

Groupe III

Le groupe III ne comprend que des espèces arbustives tropicales. Il est donc très différent du reste du genre et semble avoir suivi une évolution parallèle à celle du genre *Viguiera* dont il possède certains caractères. On ne connaît pas avec précision ses relations phylogénétiques avec les deux autres groupes : HEISER (1957) en fait un sous-genre particulier (*Viguieropsis*) au sein des *Helianthus*. Des dix-sept espèces identifiées, deux ont été étudiées : elles sont diploïdes, et l'on n'a pas réussi jusqu'à présent à les croiser avec des représentants des autres groupes.

Relations entre les groupes I et II

On connaît mal les relations entre les génomes A et B. Il y a cependant de nombreux arguments en faveur de l'hypothèse selon laquelle ils seraient le produit de la différenciation d'un même génome ancestral. Les groupes I et II présentent beaucoup d'analogies ; ils sont toutefois génétiquement assez éloignés : il n'y a pas d'hybrides naturels.

Quelques hybrides expérimentaux ont permis de confronter ces génomes. Un premier type a été réalisé par HEISER et *al.* (1962) entre diploïdes pérennes et annuels : deux combinaisons seulement (*H. canus* × *H. angustifolius*) et (*H. debilis* × *H.*

floridanus) ont été réussies. Les hybrides F_1 sont viables mais totalement stériles, avec une méiose aberrante (univalents plus ou moins nombreux, associations en chaînes à la métaphase réductionnelle (M_I), ponts d'inversions hétérozygotes à l'anaphase), révélant d'importantes différences structurales entre les chromosomes associés. Cependant, la présence, à la M_I, de quelques cellules à 17 bivalents peut traduire une homologie résiduelle entre les génomes A et B et, par conséquent, une assez proche parenté.

Un second type d'hybride a été réalisé et analysé par HEISER et SMITH (1960) dans le but de démontrer, par une synthèse expérimentale, l'origine d'une « variété » ornementale, *H.* × *multiflorus* (L.) HEISER [1]. Il s'agit de la F_1 entre *H. decapetalus*, un autotétraploïde (génomes AA) et *H. annuus* (génome B), qui pourrait donc représenter une forme haploïde du complexe hexaploïde du groupe II (auquel appartient *H. tuberosus*). Chez *H.* × *multiflorus* de même que chez les F_1 expérimentales, il y a généralement 17 bivalents (autosyndétiques et vraisemblablement de type AA) + 17 univalents (génome B) à la M_I ; ceci ne traduit pas obligatoirement une absence d'homologie entre les génomes A et B, puisque le phénomène d'appariement préférentiel peut avoir joué. Quelques-uns des chromosomes du génome B, sont, en outre, susceptibles de s'associer par autosyndèse puisque environ 20 p. 100 des cellules analysées ont 18 ou 19 bivalents. Ceci peut s'expliquer par la présence de duplications dérivant de l'existence de translocations hétérozygotes au sein de l'espèce. De telles anomalies ont été signalées chez quelques-unes des espèces diploïdes annuelles, mais pas chez *H. annuus*. Cette autosyndèse traduirait donc plutôt une homologie assez faible entre certains des chromosomes du génome B : cette dernière hypothèse plaiderait en faveur de l'origine diphylétique d'*H. annuus*.

Le dernier type d'hybrides, d'interprétation plus complexe, est (*H. tuberosus* × *H. annuus*) : à notre connaissance, à l'exception du travail de KOSTOFF (1939), aucune publication ne mentionne son comportement méiotique ni même, d'une manière plus générale, celui de tout autre hybride entre formes d'*Helianthus* diploïdes et hexaploïdes. Rappelons que l'analyse d'une seule plante F_1 avait permis à KOSTOFF de proposer une formule génomique pour *H. tuberosus* et de préciser les relations phylogénétiques entre les deux espèces : *H. annuus* est un diploïde ($2n = 34$) de formule génomique$\left(\frac{Ba}{Ba}\right)$: *H. tuberosus* est un allohexaploïde complexe ($2n = 102$), à la fois allopolyploïde segmentaire et allopolyploïde strict, de formule génomique $\left(\frac{At_1At_2Bt}{At_1At_2Bt}\right)$; le génome B plus ou moins modifié serait ainsi commun aux deux espèces. Ceci confirmerait l'hypothèse de HEISER en ce qui concerne l'origine des hexaploïdes.

Les deux espèces se croisent aisément et l'idée d'utiliser leurs hybrides à l'amélioration de l'une ou de l'autre d'entre elles est assez ancienne ; pour une bibliographie relative à ce sujet, on pourra se reporter aux publications de RUDORF (1958), GEORGIEVA (1958), DUBSKY (1959), GALAN (1960), PUSTOVOJT (1960), KAROLINI (1961), KUZDOWICZ (1963) et VENCLAVOVIC et *al.* (1963). Dans les programmes de sélection réalisés à partir de ces hybrides interspécifiques on a d'ailleurs plutôt

[1] Cette « variété » inconnue à l'état sauvage, est triploïde et stérile. Elle est d'origine assez ancienne puisqu'elle est signalée dès 1591, et serait née en Europe, à la suite d'un croisement spontané.

envisagé l'amélioration du Topinambour (les variétés-clones *D. I. 42* et *Progrès*, par exemple, sont des F_1 Topinambour × Tournesol). En effet, en dépit d'une grande hétérogénéité, la plupart des F_1 tubérisent et certaines présentent un fort effet d'hétérosis : d'où l'idée d'y rechercher des variétés plus riches en glucides ou plus productives, soit en fourrage vert, soit en tubercules ; on s'est orienté également vers la création de variétés à floraison précoce. Chez le Tournesol, on a tenté d'introduire des gènes de résistance à des maladies, rouille (*Puccinia helianthi* SCHW.) ou mildiou (*Plasmopara Halstedii* (FARL.) et de Toni), gènes présents chez le Topinambour. Des hybrides entre Topinambour et Tournesol ont été réalisés à la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand par H. PLUMET ; nous avons entrepris l'étude cytogénétique d'une partie de ce matériel dans un double but :

1° Voir dans quelle mesure l'analyse d'une nouvelle série de croisements permettrait de généraliser les conclusions de KOSTOFF, et replacer ces résultats dans le cadre du travail accompli sur l'ensemble du genre par l'équipe de HEISER.

2° Préciser l'intérêt d'un contrôle cytogénétique pour l'utilisation en sélection du matériel issu du croisement (*H. tuberosus* × *H. annuus*).

II. — MATÉRIEL

Deux combinaisons F_1 ont été étudiées, impliquant un même parent femelle, le clone de topinambour *D 19.6*, et, comme parents mâles, deux variétés-populations de Tournesol originaires de Russie : *Saratov 169* et *Jdanov 6432*. Le comportement méiotique du Tournesol a été analysé sur une variété tardive sélectionnée au Kenya qui se trouvait au stade favorable au moment où nous avons effectué les premiers prélèvements sur les F_1.

Le clone de Topinambour *D 19.6* a été sélectionné par H. PLUMET dans une descendance issue par reproduction sexuée en fécondation libre de la variété clone *D 19* (groupe des Blancs précoces) ; il a le même type végétatif que *D 19*, avec une maturité précoce. Il est remarquable par l'abondance de sa floraison, par sa fertilité en fécondation libre et surtout son autofertilité : à titre d'exemple, il a donné, en autofécondation sous sachet, les taux de grainage suivants :

1,64 graines par capitule en 1960
1,33 graines par capitule en 1961
2,64 graines par capitule en 1962

alors que dans les mêmes conditions, les différentes variétés de la collection, y compris *D 19*, n'ont produit aucune graine (PLUMET, 1964).

Pour chacune des combinaisons hybrides, quelques plantes F_1 avaient été prélevées en vue de l'analyse méiotique. En raison des difficultés d'interprétation, trois plantes seulement ont pu faire l'objet d'une analyse détaillée :

F_1 *D 19.6* × *S 169*, plantes n^{os} 105 et 150
F_1 *D 19.6* × *J 6432*, plante n° 26

III. — MÉTHODES

Nous avons dénombré les chromosomes somatiques dans les méristèmes primaires des racines Celles-ci sont prélevées sur tubercules stockés dans de la tourbe humide (Topinambour et F_1) ou sur plantules élevées en pot (Tournesol). La technique classique d'écrasement des pointes de racines

entre lame et lamelle, après coloration par la réaction nucléale de Feulgen, a donné de bons résultats. Nous l'avons utilisée selon le schéma suivant :

— les racines sont prélevées le soir et maintenues au réfrigérateur (à environ + 5°) jusqu'au lendemain matin, soit pendant 16 heures, dans une solution saturée d'α-monobromonaphtalène dans l'eau ; elles sont ensuite transférées dans l'acide acétique cristallisable où elles sont maintenues pendant 1/2 heure à la température du laboratoire ; après une hydrolyse de 12 minutes par l'acide chlorhydrique normal à 60°C, elles sont placées pendant une heure dans le réactif de Schiff, à la température ambiante ; les méristèmes, plus intensément colorés, sont alors isolés et écrasés entre lame et lamelle dans une goutte d'acide acétique à 45 p. 100.

L'analyse du comportement méiotique est effectuée dans les cellules-mères du pollen colorées à l'acétocarmin ferrique après fixation à l'alcool acétique ferrique. Le stade est repéré au préalable en écrasant une anthère dans une goutte de carmin acétique de Belling ; les quatre autres étamines de la fleur sont fixées et traitées selon une méthode déjà décrite (CAUDERON, 1958, pp. 418 et *sq.*).

IV. — RÉSULTATS

On trouvera dans les tableaux 1 et 2 les résultats de l'analyse des métaphases hétérotypiques (M_I).

1. *Helianthus tuberosus* $2n = 102 + f$

Le clone *D 19.6* utilisé dans les croisements possède un minuscule fragment additionnel particulièrement net à la M_I, où il se présente toujours sous la forme d'un univalent punctiforme. Ce fragment n'a jamais été observé dans les tissus somatiques. Il peut se transmettre aux descendants puisque nous l'avons retrouvé chez l'une des F_1 et il a, à la M_I, le même aspect que chez la plante-mère ; mais nous avons pu l'identifier également dans ce cas dans les tissus somatiques : c'est un petit chromosome télocentrique.

Si l'on ne tient pas compte du fragment, la méiose est assez régulière : 60 cellules sur 100 ont 51 bivalents mais nous avons observé quelques cellules avec univalents ou quadrivalents. Il n'y a cependant jamais plus de douze chromosomes impliqués dans des configurations autres que des bivalents.

La fréquence relative des bivalents en anneaux et des bivalents droits est extrêmement variable mais il y a souvent une majorité de bivalents droits, avec une fréquence de 0,53 par rapport au total des bivalents. L'examen des autres stades de la méiose ne révèle aucune anomalie importante, les micronoyaux sont exceptionnels et leur fréquence est de 0,10 par cellule intercinétique et 0,14 par tétraspore (*cf.* tabl. 3). Ainsi, avec un tel comportement méiotique, la fréquence d'apparition de gamètes, et par conséquent de descendances aneuploïdes, devrait être relativement faible.

2. *Helianthus annuus* $2n = 34$

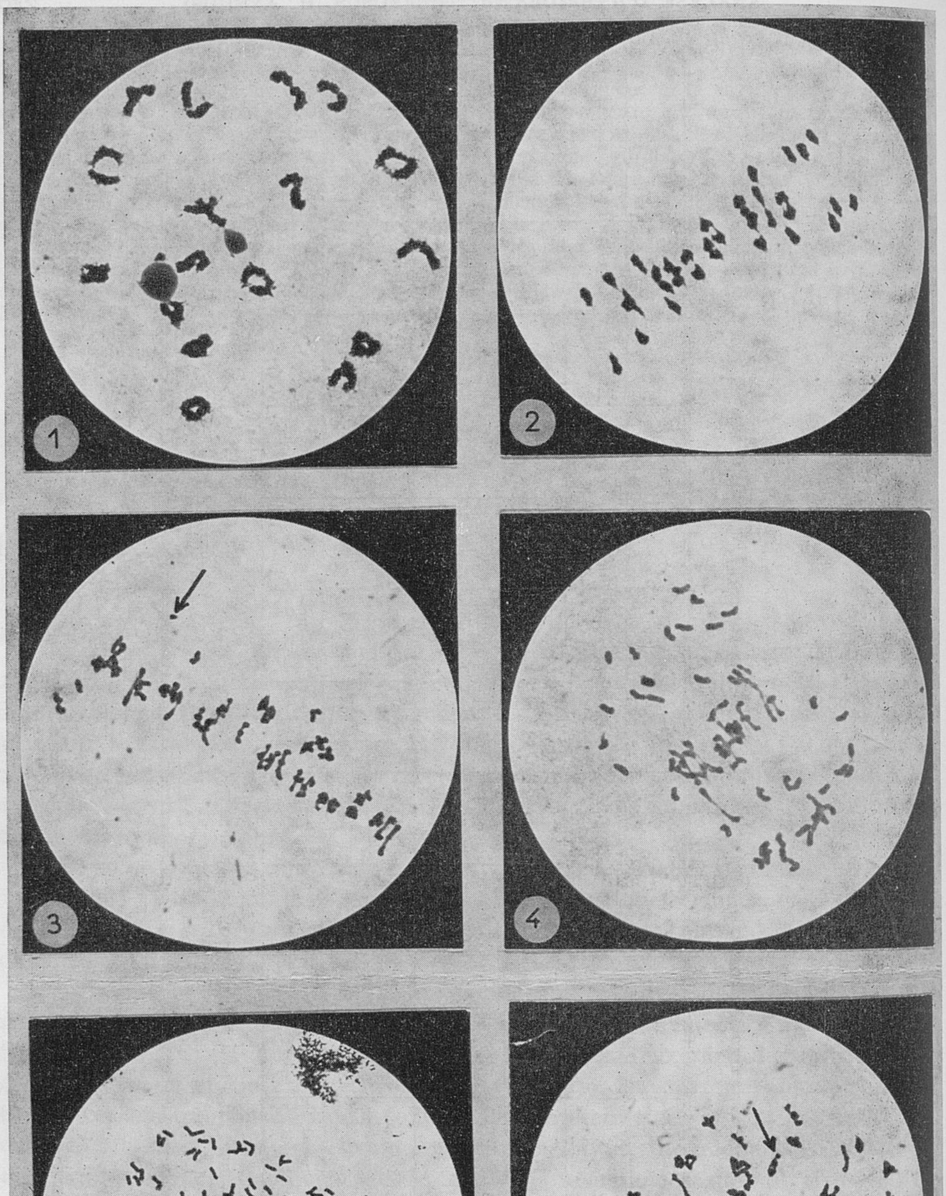
C'est un diploïde avec un caryotype asymétrique, dont les chromosomes diffèrent à la fois par la taille et par la position du centromère ; nous avons pu identifier au moins quatre paires de chromosomes à centromères subterminaux ; les treize autres paires sont de taille variable avec des centromères médians ou submédians ; parmi ces derniers, il y a au moins deux paires de chromosomes à satellites qui semblent fonctionner comme organisateurs du nucléole.

TABLEAU I

Associations chromosomiques observées à la M_{I} chez H. tuberosus, H. annuus *et chez les* F_1.

Généalogie	N°	2*n*	Nombre de cellules analysées	I		II		III		IV		VI	
				Extrêmes	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes	Moyenne	Extrêmes	Moyenne
H. tuberosus	*D 19.6*	102 + f*	100	0-2	0,08	45-51	49,88	—	0	0-3	0,54	—	0
H. annuus	—	34	100	0-2	0,12	16-17	16,94	—	0	—	0	—	0
F_1 *D 19.6 × S 169*..	150	68	40	0-56	28,75	6-34	18,30	0-2	0,35	0-3	0,32	0-1	0,05
	105	68 + f*	50	1-16	5,84	23-32	28,18	0-3	0,48	0-4	1,06	0-1	0,02
F_1 *D 19.6 × J 6432*	26	68	40	0-13	4,60	25-34	30,08	0-5	0,65	0-2	0,32	—	0
F_2 (*D 19.6 × S 169*)	11	66**	21	4-12	7,71	20-29	25,09	0-4	1,19	0-4	1,00	0-1	0,05

* Le fragment a l'aspect d'un point ; il n'en a pas été tenu compte dans les moyennes.
**+ 0,05 v (0-1).


1
2
3
4
5
6

1. *Helianthus annuus* : Diacinèse, $2n = 34$; 17 II (× env. 850)

2. *H. annuus* : Fin de M_I (Noter les disjonctions légèrement asynchrones), $2n = 34$; 17 II (× env. 850)

3. F_1 (*H. tuberosus* × *H. annuus*) : plante â faible asyndèse (n° 105) M_I, $2n = 68 + f$ (f marqué d'une flèche), 71 + 16 II *d* + 9 II *a* + 1 III + 2 IV + *f* (× env. 650).

4. F_1 (*H. tuberosus* × *H. annuus*) : plante à forte asyndèse (n° 150) M_I, $2n = 68$; 43 I + 9 II *d* + 2 II *a* + 1 III (× env. 650).

5. *H. tuberosus* : Mitose somatique, $2n = 102$ (le fragment n'est pas visible) (× env. 650).

6. *H. tuberosus* M_I $2n = 102 + f$ (*f* marqué d'une flèche) (27 II *d* + 22 II *a* + 1 IV + *f*) (× env. 650).

Pour toutes ces espèces diploïdes d'*Helianthus* analysées, les auteurs signalent généralement une méiose régulière avec 17 II à la M_I. Notre échantillon présente quelques irrégularités méiotiques sans grandes répercussions sur la fertilité. Sur

TABLEAU 2

*Analyse du comportement méiotique d'*H. tuberosus, *d'*H. annuus *et de leurs hybrides* F_1

Généalogie	Fréquence de chromosomes associés en II par cellule	Fréquence relative des deux types de bivalents						Nbre de chiasmas par cellule
		Droits			Anneaux			
		Extr.	Moy.	Fréquence	Extr.	Moy.	Fréquence	
H. tuberosus....	0,98	13-42	26,65	0,53	9-36	23,23	0,47	75,05 ± 0,70
H. annuus	1,00+	3-13	7,27	0,43	3-14	9,67	0,57	26,61 ± 0,20
F_1 nº 150......	0,54	5-25	12,92	0,71	0-21	5,37	0,29	25,67 ± 2,46
F_1 nº 105......	0,83	10-21	15,90	0,56	7-19	12,28	0,44	44,84 ± 0,49
F_1 nº 26	0,88	6-21	11,92	0,40	12-25	18,16	0,60	50,55 ± 0,54
F_2 nº 11	0,76	7-20	13,62	0,54	4-19	11,47	0,46	43,14 ± 0,66

TABLEAU 3

Fréquence des micronoyaux observés dans les cellules intercinétiques et dans les tétraspores
(100 cellules intercinétiques et 50 tétraspores analysées dans chacune des catégories)

Généalogie	Intercinèse		Tétraspores	
	Extrêmes	Fréq. par CMP	Extrêmes	Fréq. par CMP
H. tuberosus............	0-1	0,10	0-1	0,14
H. annuus..............	0-1	0,02	—	0
F_1 nº 105	0-1	0,20	0-2	0,58
F_1 nº 150............	0-3	0,70	0-3	1,88

100 cellules analysées à la M_I, 6 ont 16 II + 2 I, et les 94 autres ont 17 II avec une minorité de bivalents droits (fréquence 0,43 par rapport au total des bivalents). A l'anaphase hétérotypique (A_I), la disjonction des bivalents n'est pas parfaitement synchrone, ce qui pourrait n'être qu'une conséquence de l'hétérogénéité morphologique des chromosomes : selon le stade auquel s'effectue l'observation, début ou fin d'anaphase, on peut noter la présence de quelques bivalents à disjonction anticipée ou retardée par rapport à l'ensemble.

Dans le premier cas, les chromosomes pourraient avoir un comportement d'univalent et se perdre mais nous les avons toujours observés en position normale par rapport aux pôles. Dans le second cas, les bivalents restent liés au niveau des chiasmas et ne peuvent se disjoindre, déterminant un pont entre les pôles. La traction exercée par les centromères provoque alors un étirement des chromosomes pouvant aller jusqu'à la rupture. Le déterminisme de ce phénomène qui serait dû à un arrêt ou un ralentissement, dans les processus de terminalisation, a été discuté par ESSAD (1962, p. 59 et *sq.*) à propos d'hybrides *Lolium perenne* × *Festuca pratensis.*

Ce comportement particulier pourrait être à l'origine de remaniements structuraux ou de répartitions aberrantes des chromosomes à chacun des pôles à l'A_I. En fait, sur trente cellules analysées à ce stade, dix-huit ont une répartition 17-17 absolument normale, dix présentent un pont de « disjonction différée » avec ou sans rupture au niveau du point de jonction des deux chromosomes, deux autres ont un pont d'inversion hétérozygote accompagné d'un fragment ; mais nous n'avons pas observé de répartition dissymétrique et tous les autres stades de la méiose sont normaux : un seul micronoyau a été observé dans une cellule intercinétique.

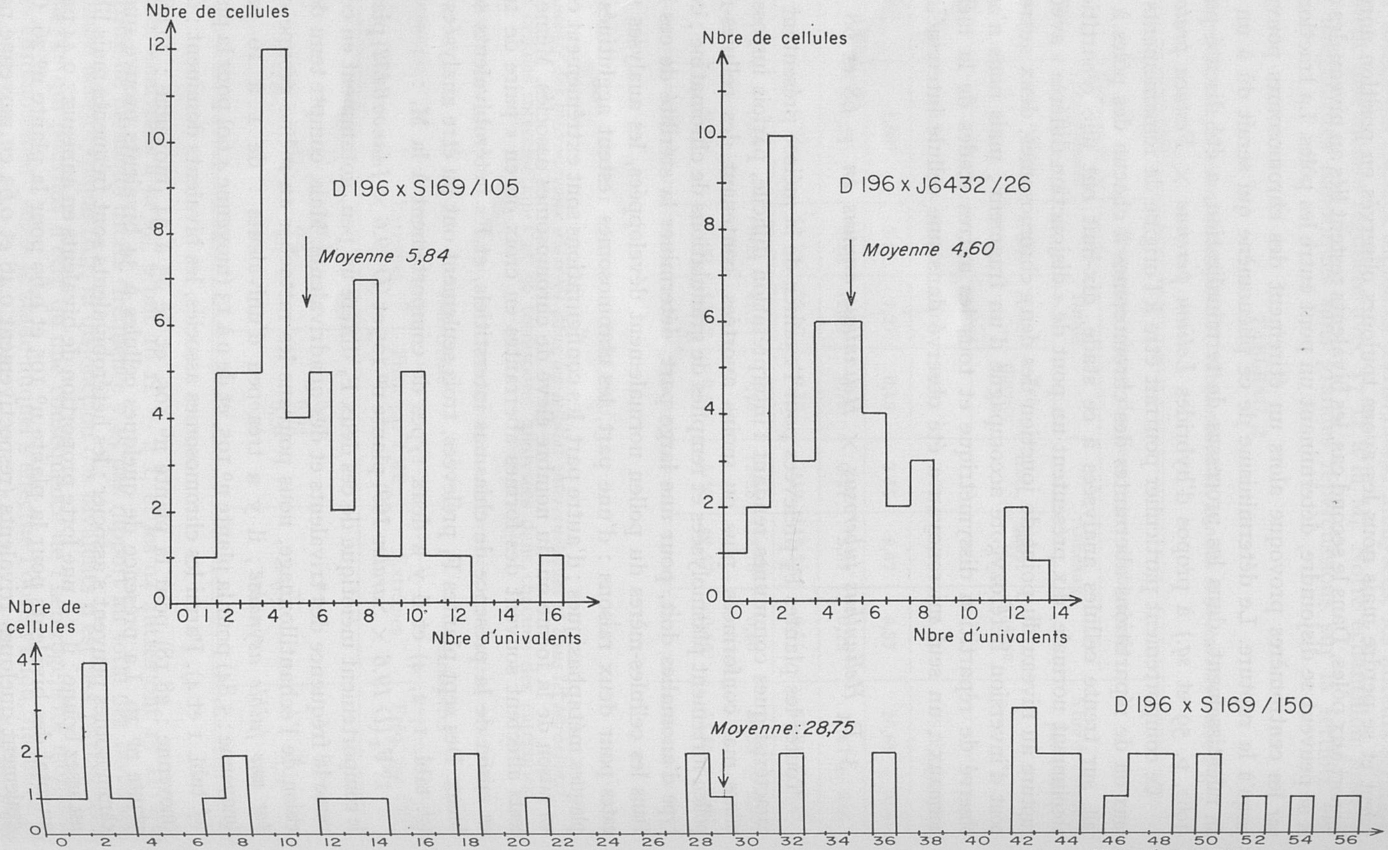
3. F_1 *Helianthus tuberosus* × *Helianthus annuus* $2n = 68$ et $68 + f$

Toutes les plantes F_1 prélevées pour l'examen de la méiose présentent quelques caractéristiques communes rendant l'interprétation difficile, parfois impossible: étamines mal conformées, plus ou moins avortées, contenant des cellules-mères du pollen fortement plasmolysées et remplies de granulations de chromatine ; ce premier type d'anomalies doit, pour une large part, déterminer la stérilité de ces hybrides. Dans les cellules-mères du pollen normalement développées, les analyses sont délicates pour deux raisons : d'une part, les chromosomes restent agglutinés dans les plaques métaphasiques ; d'autre part, les configurations sont extrêmement complexes en raison de la forme ou du nombre élevé de chromosomes associés. Même les bivalents affectent souvent des formes aberrantes en croix ou en « paire de tenailles » en raison de la présence de chiasmas interstitiels, et les hétérobivalents sont nombreux. Des sept plantes F_1 prélevées, trois seulement ont pu être analysées en détail (*cf.* tabl. 1, 2, 4) et il y a deux types de comportement à la M_I :

1° F_1 (*D 19.6* × *Saratov 169*) plante n° 105 et (*D 19.6* × *Jdanov 6432*) plante n° 26 : le comportement méiotique de ces deux F_1 diffère un peu, notamment en ce qui concerne la fréquence des trivalents et des quadrivalents. Mais, compte tenu de l'imprécision de l'échantillonnage, nous pouvons les rattacher au même groupe *caractérisé par une faible asyndèse* ; il y a très peu d'univalents : de 1 à 16 par cellule (moyenne : 5,84) pour la plante n° 105, et de 0 à 13 (moyenne 4,60) pour la plante n° 26 (*cf.* tabl. 1 et 4). Parmi les chromosomes associés, les bivalents dominent : de 23 à 32 (moyenne : 28,18) pour la plante n° 105, et de 25 à 34 (moyenne : 30,08) pour la plante n° 26. La présence de quelques cellules à 34 bivalents prouve que tous les chromosomes peuvent s'associer ; les hétérobivalents sont fréquents mais l'homologie est assez bonne : il y a une forte proportion de bivalents en anneaux : 0,44 par rapport au total des bivalents pour la plante n° 105 et 0,60 pour la plante n° 26. On trouve également quelques trivalents (respectivement 0,48 et 0,63 en moyenne par cellule) et quadrivalents (1,06 et 0,32). Ces configurations affectent la plupart du temps

TABLEAU 4

Nombre d'univalents observés chez les F_1
(H. tuberosus × H. annuus)



l'aspect de chaînes ouvertes et hétéromorphes. Les associations plus complexes sont rares : nous n'avons observé qu'un hexavalent. Signalons toutefois que la fréquence de ce type de multivalents a probablement été sous-estimée du fait de l'élimination de cellules ininterprétables.

Quatre autres plantes F_1, pour lesquelles nous n'avons pu analyser suffisamment de cellules pour calculer une moyenne précise, peuvent cependant être rattachées à ce groupe à faible asyndèse.

2° F_1 (*D 19.6 × Saratov 169*), plante n° 150 : le comportement de cette plante est beaucoup plus aberrant ; il est caractérisé par une très grande variabilité dans le mode de conjugaison des chromosomes, et, d'une manière générale, *par une forte asyndèse* (*cf.* tabl. 1 et 4). Les univalents sont fréquents : de 0 à 56 par cellule (moyenne 28, 75). L'asyndèse n'est pas due à l'absence totale d'homologie puisque nous avons observé quelques cellules avec 33 ou 34 II. Mais, la plupart du temps, les chromosomes ne sont pas associés ou forment des associations très lâches. La moyenne des bivalents est très inférieure à celle du groupe précédent : 18,30 par cellule, avec des extrêmes de 6 à 34, et la fréquence des bivalents en anneaux par rapport au total n'est que de 0,29. De même, les associations en chaîne sont plus rares.

Dans les deux groupes, et comme conséquence d'un comportement plus ou moins aberrant à la M_I, les autres stades de la méiose présentent quelques anomalies. Par exemple, à l'A_I et à l'A_{II}, nous avons observé des chromosomes retardataires et jusqu'à cinq ponts d'inversion hétérozygotes (*cf.* tabl. 5). Les chromosomes retardataires se perdent souvent et déterminent dans les cellules intercinétiques et dans

TABLEAU 5

Fréquence des ponts d'inversion hétérozygote observés chez les F_1 à l'A_I et à l'A_{II} (D 19.6 × S 169)

Nombre de ponts par cellule			0	1	2	3	4	5	Nombre de cellules analysées
Fréquence par CMP	A_I	Plante n° 105	0,52	0,16	0,16	0,08	0,04	0,04	25
		Plante n° 150	0,20	0,32	0,20	0,20	0,08	0	25
	A_{II}	Plante n° 105	0,80	0,10	0,06	0,02	0	0,02	48
		Plante n° 150	0,56	0,28	0,04	0,08	0,04	0	25

les tétrades des micronoyaux qui dégénèrent généralement : le taux des éliminations méiotiques, évalué d'après la fréquence des micronoyaux à l'A_I et à l'A_{II} est beaucoup plus élevé chez les F_1 que chez les espèces parentes, le maximum étant atteint pour la plante à forte asyndèse (*cf.* tabl. 3). Les étamines sont généralement déhiscentes (1) mais contiennent un pollen très hétérogène, avec environ 50 p. 100 de

(1) Ce caractère est fluctuant et en partie lié aux conditions climatiques ; il ne semble y avoir aucune relation entre la déhiscence des étamines et le pourcentage de grains de pollen normaux.

grains d'apparence normale. Les plantes sont totalement stériles en autofécondation ; et leur stérilité est vraisemblablement à la fois chromosomique et génique. Cependant, la présence de gènes d'autostérilité pouvant provenir aussi bien de l'un que de l'autre des parents est probablement le facteur le plus important. On peut, en effet, obtenir assez facilement des graines en fécondation libre ou en croisement contrôlé : croisement des F_1 entre elles, recroisement par l'un ou par l'autre des parents. PLUMET (1964) rend compte des résultats des premiers recroisements et quelques-unes des descendances sont actuellement en cours d'étude. Pour le moment, les descendances issues du recroisement par le parent Tournesol semblent les plus faciles à obtenir.

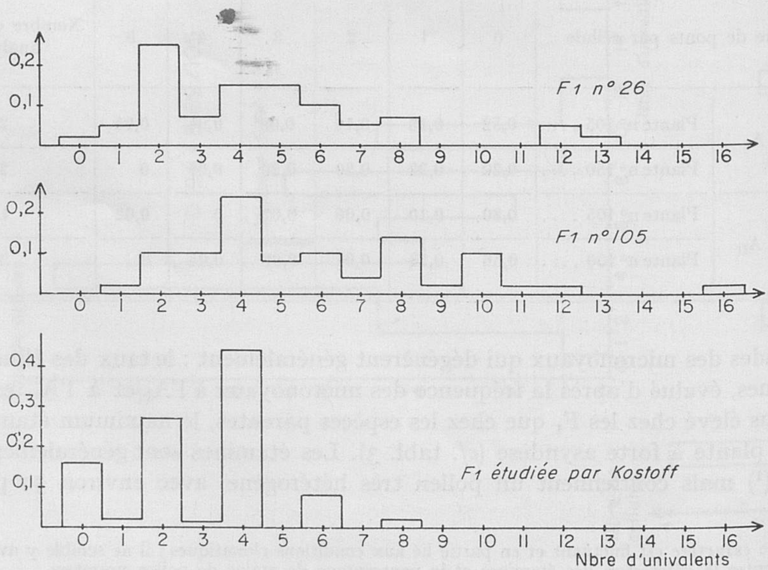
V. — DISCUSSION

Nos résultats confirment ceux de KOSTOFF tout en les précisant : *H. tuberosus* apparaît bien comme un allopolyploïde complexe, mais la seule étude de sa méiose ne permet pas d'en déterminer la structure. C'est l'analyse de l'hybride (*H. tuberosus* × *H. annuus*) qui doit apporter quelques précisions. KOSTOFF n'a analysé qu'une plante F_1 et ne donne pas le comportement méiotique moyen des chromosomes à la M_I. Il déduit le taux de conjugaison chromosomique de la fréquence des univalents, ce qui se justifie puisqu'il n'identifie en fait que d'occasionnels multivalents (1 sur 38 cellules). L'asyndèse étant exceptionnelle (0 à 8 I avec une très forte majorité de cellules à 0 ou 2 ou 4 I (*cf.* tabl. 6), il conclut que,

TABLEAU 6

Comparaison des fréquences d'univalents observées dans les cellules-mères du pollen chez différentes F_1.

F_1 (H. tuberosus × H. annuus)



parmi les 34 II qui peuvent se former, 17 proviennent de la conjugaison allosyndétique du génome Ba d'*H. annuus* et d'un génome Bt d'*H. tuberosus*, les 17 autres étant issus de la combinaison autosyndétique des deux autres génomes At_1 et At_2 d'*H. tuberosus* : il attribue à *H. tuberosus* la formule génomique $\left(\frac{At_1At_2Bt}{At_1At_2Bt}\right)$. Il souligne de plus l'importance et les effets possibles des remaniements structuraux, bien qu'il n'ait en fait décelé que des inversions hétérozygotes.

Notre matériel se distingue de celui que KOSTOFF a analysé par une plus grande variabilité : entre plantes d'une part, et au sein de chaque plante, entre cellules, d'autre part (*cf.* tabl. 6). Même dans le groupe des plantes à *faible asyndèse*, nous avons généralement observé davantage d'univalents et de nombreux multivalents.

Cependant, en dépit de cette hétérogénéité, et même chez la plante à *forte asyndèse*, les 68 chromosomes de l'hybride sont capables de s'associer deux à deux. Nous retrouvons les deux groupes de génomes homéologues At_1-At_2 et Ba-Bt de KOSTOFF. Le taux des associations multivalentes, probablement sous-estimé par KOSTOFF, est assez élevé ; les chaînes sont généralement hétéromorphes. Compte tenu des études de HEISER portant sur l'ensemble du genre, on peut admettre que ce type d'associations résulte à la fois de la présence de translocations et d'une homologie résiduelle entre les chromosomes des génomes A et B (et même entre chromosomes à l'intérieur du génome B). L'hétérozygotie structurale des homéologues permet d'expliquer en partie les différents types de comportement méiotique des F_1 : elle complique et empêche parfois les processus d'appariement et de terminalisation. L'analyse d'un matériel plus abondant permettrait peut-être d'observer toutes les formes de passage entre une méiose normale et une méiose asynaptique. Cependant, dans un matériel si hétérogène, la possibilité d'action de systèmes génétiques simples déterminant l'asynapsis doit être retenue : les plantes F_1 à faible asyndèse peuvent sans doute être considérées comme le type « normal » et les formules génomiques proposées semblent bien être une base de raisonnement admissible.

VI. — CONCLUSIONS

Les F_1 (*H. tuberosus* × *H. annuus*) ne diffèrent pas essentiellement de ce que l'on considère comme « une espèce » au sein des *Helianthus* polyploïdes : ces F_1 sont très peu fertiles, mais la plupart d'entre elles sont capables de se maintenir végétativement. Du point de vue pratique, on peut tout simplement essayer d'exploiter directement leur variabilité génétique : une sélection parmi les populations de F_1 peut être efficace. Mais les possibilités d'utilisation directe de ce matériel sont probablement limitées au cadre de l'amélioration du Topinambour, et nous avons déjà précisé les objectifs poursuivis et les résultats obtenus dans ce sens. On ne peut guère espérer exploiter toutes les potentialités d'un tel matériel sans chercher à en obtenir des descendants.

La structure complexe et le niveau polyploïde élevé des F_1, de même que la stérilité du Topinambour, rendent aléatoires un programme de création et d'utilisation d'amphidiploïdes de type $\left(\frac{At_1At_2BaBt}{At_1At_2BaBt}\right)$. Par contre, le croisement direct des F_1

entre elles en vue de l'obtention de types nouveaux, au niveau tétraploïde, ne semble présenter aucune difficulté ; ces F_1 sont autostériles mais interfertiles et elles produisent aisément des graines en fécondation libre ou en croisement contrôlé : on peut ainsi espérer voir apparaître de nouveaux génotypes issus de recombinaisons de gènes portés par les chromosomes homéologues associés chez les F_1, et effectuer une sélection plus efficace qu'au niveau F_1. L'objectif essentiel d'un programme de ce genre devrait être la « construction » d'une espèce allotétraploïde de type $\left(\frac{\mathrm{A}x\mathrm{B}x}{\mathrm{A}x\mathrm{B}x}\right)$ structuralement homozygote et chromosomiquement stable. Pour être bien conduite, une telle recherche implique un contrôle cytogénétique précis au cours des premières générations. En effet, sans un choix effectué d'après le nombre de chromosomes et d'après le comportement méiotique, on ne saurait éviter l'élimination progressive des chromosomes non appariés et la stabilisation à un niveau inférieur au niveau tétraploïde ($2n = 68$). La sélection de ce matériel peut d'ailleurs être envisagée dans le cadre de l'amélioration aussi bien du Topinambour que du Tournesol.

Le recroisement des F_1 par le Topinambour semble assez difficile à exploiter. Il devrait permettre un retour très lent au niveau hexaploïde ; il conduira, le plus souvent, à des types aneuploïdes avec des nombres de chromosomes légèrement inférieurs à $2n = 102$. Par cette méthode, cependant, on induira, au niveau hexaploïde, une nouvelle variabilité. En effet, étant donné le comportement méiotique des F_1, on peut espérer introduire chez le Topinambour certains des gènes du Tournesol, à la suite d'associations de type BaBt, mais aussi favoriser la recombinaison de gènes déjà présents chez le Topinambour par suite d'associations de type At_1At_2.

Le recroisement des F_1 par le Tournesol offre des perspectives intéressantes : il devrait entraîner un retour rapide au niveau diploïde avec élimination progressive de l'hétérozygotie structurale, qui est une des causes de la stérilité. Schématiquement le problème se présente ainsi : la F_1, à $2n = 68$, avec pour formule génomique $\left(\frac{\mathrm{At_1Bt}}{\mathrm{At_2Ba}}\right)$, doit produire des gamètes recombinés pour chacun des deux génomes, ayant $\pm$ 34 chromosomes et une formule génomique voisine de (A*x*B*x*). Ces gamètes, fécondés par des gamètes de Tournesol (Ba), doivent donner des individus R_I à $\pm$ 51 chromosomes, de constitution proche de $\left(\frac{\mathrm{A}x\mathrm{B}x}{\mathrm{Ba}}\right)$. Effectivement, il semble bien en être ainsi : sur sept plantes R_I que nous avons analysées en 1964, six ont des nombres de chromosomes compris entre 51 et 53 ; la septième, que nous supposons issue d'une autofécondation accidentelle, possède 66 chromosomes, avec un comportement méiotique comparable à celui des F_1 *à faible asyndèse* (*cf.* tabl. 1 et 2). Elle a d'ailleurs donné à son tour, en recroisement par le Tournesol, des individus dont le nombre de chromosomes s'échelonne entre $2n = 49$ et 52.

Ces plantes R_I, qui forment en moyenne, à la méiose, 17 II (de type B*x*Ba) + 17 I (A*x*) produiront à leur tour des gamètes qui devraient posséder normalement un génome (B) complet, issu de recombinaison entre B*x* et B*a*, et une partie seulement des chromosomes du génome A*x*. Ceux-ci s'élimineront progressivement au fur et à mesure des recroisements, à moins qu'une sélection ne soit effectuée à chaque génération pour l'un des caractères qu'ils déterminent. Avec cette méthode introgressive, on peut espérer obtenir divers types de résultats :

1º La sélection pour des caractères déterminés par des gènes situés sur les chromosomes du génome B conduira à la création de types diploïdes normaux, $2n = 34$ (BB) issus de recombinaisons normales entre B*x* et Ba.

2º Étant donné que les échanges entre les génomes A et B sont extrêmement limités, la sélection pour des caractères conditionnés par des gènes situés sur les chromosomes du génome A conduira généralement à la création de lignées d'addition (BB + 1 paire de A).

3º Le choix du Topinambour comme parent femelle, dans ce programme de recroisement, permettra peut-être d'exploiter quelques caractères à hérédité cytoplasmique.

Reçu pour publication en février 1965.

SUMMARY

CYTOGENETIC ANALYSIS OF HYBRID BETWEEN « HELIANTHUS TUBEROSUS » AND « H. ANNUUS » ; CONSEQUENCES FOR SELECTION

The cytogenetic analysis of some F_1 between *H. tuberosus* ($n = 51$) and *H. annuus* ($n = 17$) shows two types of meiotic behaviour, one *weakly* and the other *strongly* asyndetic. However, this does not invalidate the conclusions previously established by KOSTOFF concerning the genomic structure of *H. tuberosus* and its relations with *H. annuus*, since we have observed in both groups pollen mother cells with 34_{II}. *H. tuberosus* would therefore be a complex allohexaploid of genomic formula $(At_1\,At_2\,Bt)/(At_1\,At_2\,Bt)$, the genome B*t* being homologous to the genome B*a* of *H. annuus*. The observed asyndesis could come from a very weak homology and from the presence of numerous structural changes ; it is more probably of genic origin. The comparison of these results with those of HEISER, concerning the whole of the genus *Helianthus*, allows one to suppose that the observed multivalent associations could be due both to translocations and to a residual homology between the A and B genomes.

In order to use these hybrids, one must envisage the creation of diverse introgressive fertile forms which are chromosomically stable :

— from the crossing of F_1 between themselves one could obtain allotetraploid forms of the formula A*x* B*x*/A*x* B*x* ;

— by back-cross with *H. annuus*, one could obtain diploid forms (B*x*)/(B*x*) or addition lines [(B*x*/B*x*) + 1 pair of A chromosomes], according to the origin of the genes determining the characteristics undergoing selection.

ZUSSAMENFASSUNG

CYTOGENETISCHE ANALYSE VON HYBRIDEN ZWISCHEN « HELIANTHUS TUBEROSUS » UND « H. ANNUUS ». FOLGERUNGEN HINSICHTLICH DER SELEKTION

Die cytogenetische Analyse von einigen F_1 zwischen *H. tuberosus* ($n = 51$) und *H. annuus* ($n = 17$) ermöglicht die Feststellung von zwei meiotischen Verhaltungstypen, der eine mit *schwacher*, der andere mit *starker* Asyndesis. Dadurch, werden jedoch die Schlussfolgerungen, die früher von KOSTOFF betreffs der genomischen Struktur von *H. tuberosus* und seinen Beziehungen zu *H. annuus* aufgestellt waren, nicht entkräftet, da wir in den beiden Gruppen Mutterzellen des Pollens zu 34^{II} beobachtet haben.

So wird *H. tuberosus* als ein allohexaploïder Komplex gemäss der genomischen Formel

$$\left(\frac{At_1\ At_2\ Bt}{At_1\ At_2\ Bt}\right)$$

bestätigt, wobei das Genome B*t* ein Homeolog des Genomes B*a* von *H. annuus* ist. Es ist zu vermuten, dass die beobachtete Asyndesis einer äusserst schwachen Homologie und dem Vorhan-

desein von zahlreichen struckturellen Umarbeiten zuzuschreiben ist ; wahrcheinlichers ist es jedoch, dass sie genetischen Ursprungs ist. Der Vergleich dieser Ergebnisse und derjenigen von HEISER, betreffend die gesamte Gattung *Helianthus*, erlaubt zu vermuten, dass die beobachteten mehrwertigen verbindugen gleichzeitig auf Uebertragungen und auf eine restliche Homologie zwischen den Genomen A und B zurückzuführen sind.

Um diese Hybride zu verwenden, kann die Schaffung von verschiedenen « introgressiven » fruchtbaren und chromosomisch stabilen Formen ins Auge gefasst werden :

— ausgehend von gegenseitigen F_1 — Kreuzungen, wird es möglich sein, allotetraploïde Formen gemäss der Formel $\left(\frac{Ax\ Bx}{Ax\ Bx}\right)$ zu erzeugen,

— durch Rückkreuzung mit *H. annuus* besteht die Möglichkeit, diploïde Formen $\left(\frac{Bx}{Bx}\right)$ oder Additionsnachkommenschaften $\left(\frac{Bx}{Bx} + 1 \text{ Chromosomenpaar aus A}\right)$, je nach dem Ursprung der Gene, die die zur Selektion bestimmten Merkmale festlegen, zu erhalten.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CAUDERON Y., 1958. Étude cytogénétique des *Agropyrum* français et de leurs hybrides avec les Blés. *Ann. Amélior. Plantes*, **8**, 389-567.

CLEVENGER S. and HEISER C. B., 1963. *Helianthus laetiflorus* and *Helianthus rigidus*, hybrids or species. *Rhodora*, **65**, 121-133.

DUBSKY V., 1959. (A cross between sunflower and Jerusalem artichoke — a promising fodder crop) (en tchèque). *Za socialist Zeměd*, **8**, 352-358. (*In Plant Breed. Abstr.*, **31**, 2448).

ESSAD S., 1962. Étude génétique et cytogénétique des espèces *Lolium perenne* L., *Festuca pratensis* HUDS. et de leurs hybrides. *Ann. Amélior. Plantes*, **12**, nº hors série, 1-103.

GALAN C., 1960. (The results obtained from crossing the Jerusalem artichoke with the sunflower) (en roumain). *An. Inst. Cerc. Agron.*, Série C, **28**, 263-278. (*In Plant Breed. Abstr.*, **32**, 5459).

GEORGIEVA J., 1958. Interspecific hybridization in plant (en bulgare). *Selskostopan Mišah*, **3**, 384-385. (*In Plant Breed. Abstr.*, **29**, 4285).

HEISER C. B., 1947. Hybridization between the sunflower species *Helianthus annuus* and *H. petiolaris*. *Evolution*, **1**, 249-262.

HEISER C. B., 1949 *a*. Study in the evolution of the sunflower species *Helianthus annuus* and *H. Bolanderi*. *Univ. Calif. Publ. Bot.*, **23**, 157-208. (*In Plant Breed. Abstr.*, **20**, 2552).

HEISER C. B., 1949 *b*. Taxonomic and cytological notes on the annual species of *Helianthus*. *Bull. Torrey Cl.*, **75**, 512-515. (*In Plant Breed. Abstr.*, **19**, 459).

HEISER C. B., 1951 *a*. Hybridization in the annual sunflowers *Helianthus annuus* × *H. debilis* var. *cucumerifolius*. *Evolution*, **5**, 42-51.

HEISER C. B., 1951 *b*. Hybridization in the annual sunflowers *Helianthus annuus* × *H. argophyllus*. *Amer. Nat.*, **85**, 65-72. (*In Plant Breed. Abstr.*, **21**, 2928).

HEISER C. B., 1954. Variation and subspeciation in the common sunflower *Helianthus annuus*. *Amer. Midl. Nat.*, **51**, 287-305. (*In Plant Breed. Abstr.*, **26**, 2731).

HEISER C. B., 1956. The biosystematics of *Helianthus debilis*. *Madrôno*, **18**, 145-167. (*In Plant Breed. Abstr.*, **26**, 3644).

HEISER C. B., 1957. A revision of the South American species of *Helianthus*. *Brittonia*, **8**, 283-295.

HEISER C. B. 1958. Three new annual sunflowers (*Helianthus*) from the Southwestern United States. *Rhodora*, **60**, 272-283. (*In Plant Breed. Abstr.*, **29**, 1865.

HEISER C. B., 1961 *a*. Morphological and cytological variation in *Helianthus petiolaris* with notes on related species. *Evolution*, **15**, 247-258.

HEISER C. B., 1961 *b*. Natural hybridization and introgression with particular reference to *Helianthus*. *Rec. adv. in Bot.*, **1**, 874-877.

HEISER C. B., 1961 *c*. Evolution in sunflowers. *Amer. J. Bot.*, **48**, 547.

HEISER C. B., 1961 *d*. A new annual sunflower *H. deserticolas* from the Southwestern United States. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 1960, **70**, 209-210.

HEISER C. B., MARTIN W. C., SMITH D. M., 1962. Species crosses in *Helianthus*. I. Diploid species. *Britonia*, **14**, 137-147.

HEISER C. B. and SMITH D. M., 1955. New chromosome numbers in *Helianthus* and related genera (Compositae). *Proc. Indian Acad. Sci.* for 1954, **64**, 250-253.

HEISER C. B. and SMITH D. M., 1960. The origin of *Helianthus multiflorus*. *Amer. J. Bot.*, **47**, 860-865.

JACKSON R. C., 1955. Natural hybridization in perennial sunflowers centered about *Helianthus mollis*. *Diss. Abstr.*, **15**, Pub. n° 14-406, 2393. (*In Plant Breed. Abstr.*, **26**, 3642).

JACKSON R. C., 1956. The hybrid origin of *Helianthus doronicoïdes*. *Rhodora*, **58**, 97-100.

JACKSON R. C., 1963. Cytotaxonomy of *Helianthus ciliaris* and related species of the Southwestern U. S. and Mexico. *Brittonia*, **15**, 260-271.

JACKSON R. C. and GUARD A. T., 1955. Hybridization of perennials sunflowers in Indiana. *Proc. Acad. Sci.*, **65**, 212-217.

JACKSON R. C. and GUARD A. T., 1957 *a*. Analysis of some natural and artificial interspecific hybrids in *Helianthus*. *Proc. Acad. Sci.*, **66**, 306-317.

JACKSON R. C. and GUARD A. T., 1957 *b*. Natural and artificial hybridization between *Helianthus mollis* and *H. occidentalis*. *Amer. Midl. Nat.*, **58**, 422-433. (*In Plant Breed. Abstr.*, **28**, 4572).

KAROLINI W., 1961. (Breeding experiments on Jerusalem artichoke *H. tuberosus* L.) (en polonais). *Hodowla Roslin Aklimatyz Nasiennictwo*, **5**, 353-368. (*In Plant Breed. Abstr.*, **32**, 1297).

KOSTOFF D., 1934. A contribution to the meiosis of *Helianthus tuberosus* L. *Z. Pflanzzucht.*, **19**, 429-438.

KOSTOFF D., 1939. Autosyndesis and structural hybridity in F_1 hybrid *Helianthus tuberosus* L. × *H. annuus* L. and their sequences. *Genetica*, **21**, 285-300.

KURDOWICZ A., 1963. Interspecific hybrids of Jerusalem artichoke (*H. tuberosus* L.) with common sunflower (*H. annuus* L.) (en polonais, résumé anglais). *Hodowla Roslin Aklimatyz Nasiennictwo*, **7**, 481-500.

LONG R. W., 1955 *a*. Hybridization in perennial sunflowers. *Amer. J. Bot.*, **42**, 769-777.

LONG R. W., 1955 *b*. Hybridization between the perennial sunflowers *Helianthus salicifolius*(A.) DIETR. and *H. grosseserratus* MARTENS. *Amer. Midl. Naturalist*, **54**, 61-64.

LONG R. W., 1957. A cytological analysis of a naturally occuring *Helianthus* hybrid. *Ohio J. Sci.*, **57**, 65-69. (*In Plant Breed. Abstr.*, **27**, 3364).

LONG R. W., 1959. Natural and artificial hybrids of *Helianthus maximiliani* × *H. grossesserratus*. *Amer. J. Bot.*, **46**, 687-692.

LONG R. W., 1960. Biosystematics of two perennial species of *Helianthus* (Compositae). I. Crossing relationships and transplant studies. *Amer. J. Bot.*, **47**, 729-735.

LONG R. W., 1963. Cytogenetic investigations of artificial *Helianthus giganteus* × *H. salicifolius* hybrids (Compositae). *Ohio J. Sci.*, **63**, 273-281. (*In Plant Breed. Abstr.*, **34**, 4574).

PLUMET H., 1964. *Rapport d'activité de la Station d'Amélioration des Plantes de Clermont-Ferrand pour la période* 1960-1963.

PUSTOVOJT U. S., 1960. (Methods of producing sunflower varieties immune to the main diseases and pests) (en russe). (*Rep. agric. Sci.*, **10**, 26-38). (*In Plant Breed. Abstr.*, **31**, 5256).

RUDORF W., 1958. Topinambur, *Helianthus tuberosus* L. In *Handb. Pflanzzucht.*, III, 327-341. Paul Parey in Berlin und Hamburg.

RUDORF W., 1961. Die Sonnenblume, *Helianthus annuus* L. *In Handb. Pflanzzucht.*, V, 89-114. Paul Parey in Berlin und Hamburg.

SMITH D. M., 1961. Variation in the tetraploid sunflowers *Helianthus decapetalus*, *H. hirsutus*, *H. strumosus*. *Rec. adv. Bot.*, **1**, 878-881.

SMITH D. M. and GUARD A. T., 1958. Hybridization between *Helianthus divaricatus* and *H. microcephalus*. *Brittonia*, **10**, 137-145.

SMITH D. M. and MARTIN W. C., 1959. Natural hybridization of *Helianthus longifolius* with *H. atrorubens* and *H. occidentalis*. *Rhodora*, **61**, 140-147.

STEBBINS G. L. and DALY K., 1961. Changes in the variation pattern of a hybrid population of *Helianthus* over an eight-year period. *Evolution*, **15**, 60-71.

VENCLAVOVIC F. S. and NOVOTEL'NOVA, 1963. (Infection of species and interspecific hybrids of the genus *Helianthus* by downy mildew of cultivated sunflowers in the conditions of the Krasnodar region (en russe). *Trud. priklad. Bot .Genet. Selekc.*, **35**, 120-127. (*In Plant Breed. Abstr.*, **34**, 4582).

WATSON E. E., 1929. Contributions to a monograph of the genus *Helianthus*. *Papers Michigan Acad. Sci.*, **9**, 305-475.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (3), 263-326.

LA SÉLECTION DE PORTE-GREFFES DU POIRIER DANS LES POPULATIONS NATURELLES DE COGNASSIER

I. — ÉTUDE DES POPULATIONS NATURELLES DE COGNASSIER

J. BROSSIER

Station de Recherches d'Arboriculture fruitière,
Angers (Maine-et-Loire)

SOMMAIRE

Après une étude botanique du genre *Cydonia*, il est fait l'historique de l'utilisation du Cognassier comme porte-greffe.

Pour effectuer ce travail, trois cents souches de cognassiers, provenant de lots du commerce et surtout de prospections effectuées dans le sud-est et le sud-ouest de la France, ont été rassemblées. Des souches furent aussi introduites de plusieurs pays méditerranéens : Israël, Italie, Égypte, Algérie et Tunisie.

Un rappel des travaux de HATTON et TYDEMAN est donné et une classification est proposée, comprenant treize groupes principaux.

La caractérisation des individus de ces groupes a été effectuée d'après l'étude biométrique de trois caractères foliaires. Cette étude est fondée sur les méthodes d'analyse à variables multiples adaptées aux problèmes de classification.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le Cognassier se rencontre à l'état spontané au sud du Caucase, Arménie et Azerbaïdjan, et à l'état subspontané dans presque tous les pays bordant la mer Méditerranée.

Ses fruits ont été utilisés depuis la plus haute antiquité et beaucoup d'auteurs pensent que les pommes d'or du jardin des Hespérides étaient les fruits du Cognassier. Son emploi, comme porte-greffe du Poirier, semble beaucoup plus récent puisque la première mention que nous ayons trouvée à ce sujet date de 1300. De nos jours, quatre-vingt-dix pour cent au moins des poiriers plantés en France sont écussonnés sur ce porte-greffe. Mais l'extension des vergers dans de nombreuses régions de sols et de conditions climatiques très différentes, ainsi que l'apparition de nouvelles variétés, montrent que les types actuellement utilisés ne répondent pas à tous les

besoins de l'arboriculture fruitière moderne. On peut penser que cette gamme de Cognassier ne représente pas toute l'espèce.

C'est pourquoi, afin de réaliser une étude aussi complète que possible des cognassiers comme porte-greffes du Poirier, nous avons prospecté les régions sud de la France et prélevé de nombreux individus. Après les avoir caractérisés, nous avons entrepris leur sélection génétique et sanitaire.

Les résultats de ce travail sont présentés dans ce mémoire qui comprendra deux parties :

I. — L'étude des populations naturelles de Cognassier.

II. — La sélection de porte-greffes du Poirier dans les populations naturelles de Cognassier (1).

I. — LE GENRE « CYDONIA »

Ce genre appartient à la tribu des Pirées de la famille des Rosacées. Il est caractérisé par des arbustes ou buissons non épineux, pouvant atteindre cinq à huit mètres de hauteur. Les jeunes branches tomenteuses portent des bourgeons petits, pubescents, protégés par des écailles peu nombreuses et peu serrées. Les feuilles, dont la base est arrondie ou subcordée, sont ovales à oblongues ; leur extrémité est pointue et leur contour est entier ; la face supérieure est glabre et vert terne, la face inférieure est très pileuse et gris argent ; le limbe a 10 cm de long. Le pétiole, toujours muni de stipules à la base, a dix à dix huit millimètres de long. Les fleurs rose pâle ou quelquefois blanches sont terminales et solitaires à l'extrémité des jeunes pousses feuillues; elles apparaissent deux mois environ après la feuillaison ; les étamines au nombre de 20 sont plus longues que les cinq styles libres et pubescents à la base. Les fruits sont recouverts d'un épais feutrage qu'ils perdent à la maturité ; à ce stade ils deviennent uniformément jaunes ; ils contiennent de très nombreux pépins, 40 à 50 en moyenne.

De nombreux botanistes ont décrit ce genre, entre autres MILLER (1768), DIPPEL (1893), SCHNEIDER (1906). Ils ne lui reconnaissent qu'une seule espèce :
Cydonia oblonga MILL (*Cydonia vulgaris* PERS *ou* *Pyrus Cydonia* LG)

D'après les travaux de ces botanistes, REHDER divise cette espèce en cinq variétés :

C. O. pyriformis (KIRCHN) var. Rehd. C'est la forme typique de SCHNEIDER (var. *typica* SCHNEID) dont les fruits sont en forme de poire non côtelés.

C. O. maliformis (MILL) var. SCHNEID : fruits en forme de pomme.

C. O. lusitanica (MILL) var. SCHNEID : fruits en forme de poire et cotelés. L'arbre de taille plus élevée présente des feuilles plus larges et des fleurs plus grandes de couleur blanc-rose. C'est la forme la plus vigoureuse. Le cognassier du Portugal appartient à cette variété.

C. O. pyramidalis (DIPP) var. SCHNEID dont le port est pyramidal et les feuilles étroites et minces.

C. O. marmorata (DIPP) var. SCHNEID. feuilles jaunes bigarrées de blanc.

(1) Cette seconde partie sera publiée dans un prochain numéro des Annales.

D'après EVREINOFF, cette dernière forme existe tant dans la variété pyriforme ou typique que dans la variété maliforme :

C. oblonga (MILL) var. *typica* f. *marmorata*
C. oblonga (MILL) var. *maliformis* f. *variegata*

Ces deux dernières formes se rencontrent rarement et sont bien plus sensibles au froid que les autres.

Comme la plupart des espèces cultivées, le Cognassier a pour lieu d'origine les territoires voisinant le Caucase. A ce sujet, EVREINOFF a écrit : « Encore tout récemment, on considérait comme patrie du Cognassier commun une vaste région englobant le Turkestan, la Perse, la Caucasie, l'Asie mineure et l'Europe méridionale. A l'encontre de cette opinion, les études récentes de VAVILOFF en excluent le Turkestan ainsi que toutes les autres régions de l'Asie centrale. Les derniers travaux de ZHUKOVSKI, VORONOFF et MEDVEDEFF permettent de limiter encore bien davantage le pays d'origine du Cognassier, à savoir la Caucasie méridionale, l'Arménie et les contrées voisines de la Perse et de l'Asie mineure. D'après SCHAVROFF c'est du littoral caucasien-talysch — et persan-mizanderan — de la mer Caspienne que serait issu le Cognassier. Ces considérations concordent d'ailleurs avec l'opinion de C. K. SCHNEIDER qui nie l'existence du Cognassier sauvage en Europe méridionale ; les spécimens sauvages que l'on y rencontre devront être considérés comme dérivés des formes anciennement cultivées (HEGI). Par conséquent, conformément aux données les plus récentes, on devra considérer comme patrie du Cognassier commun la Caucasie méridionale, notamment l'Arménie et l'Azerbaïdjan ou encore Talysch région du littoral de la mer Caspienne (KOMAROFF). »

Le bassin méditerranéen est l'aire naturelle d'extension du genre *Cydonia*. C'est ainsi qu'on le rencontre dans toute la partie méridionale de la France.

II. — LE COGNASSIER UTILISÉ COMME PORTE-GREFFE DU POIRIER

Si la culture du Cognassier pour ses fruits était déjà connue au VII^{e} siècle avant J.-C. il ne semble pas qu'il en fut de même pour son emploi en tant que porte-greffe du Poirier. Le premier document que nous avons trouvé concernant cet usage date du début du XIV^{e} siècle. Son auteur, Pierre de CRESCENS, cite le Cognassier comme porte-greffe du Poirier avec le Poirier franc, l'Aubépine et le Néflier mais le déconseille car les sujets obtenus sont trop petits. En 1578, Antoine MIZAULD, citant un auteur plus ancien, DIOPHANUS, écrit que le Poirier se greffe sur le Cognassier. En 1586, d'après Charles ESTIENNE « on plante communément des billes de franc coignier, sur lesquels on ente des poiriers, pommiers ... »

Il semble donc que l'on puisse fixer approximativement à la seconde moitié du XIV^{e} siècle le début de l'utilisation du Cognassier comme porte-greffe du Poirier. Il est possible que cet usage soit venu d'Italie. On sait, en effet, d'après ce que rapporte G. della PORTA en 1658 que « les poiriers nains produits par greffage sur Cognassier étaient nombreux en Italie en 1589 ». C'est la création, en Italie au début du XVI^{e} siècle, de la forme en espalier qui contribuera à développer l'usage du Cognassier comme porte-greffe. En France, d'après l'abbé LEGENDRE, c'est au cours

de la première partie du XVII^e siècle que cette expansion du Cognassier est apparue. Dans son livre intitulé *La manière de cultiver les arbres fruitiers* dont la première édition est parue en 1652, cet auteur écrit : « Je m'appliquay principalement à la culture des espaliers... en quoy j'ai été beaucoup aidé par *l'invention de greffer sur Cognassier.* »

Quel était le type de Cognassier utilisé à cette époque ? l'Abbé LEGENDRE cite trois sortes de Cognassier et pendant deux siècles, de 1650 à 1850, tous les traités d'arboriculture (1) reprennent ses descriptions. Le plus souvent, cependant, il n'est fait mention que de deux types dont le second seulement est recommandé comme porte-greffe :

— le cognassier aux fruits en forme de pomme, appelé coignier ou cognassier mâle ou encore cognassier maliforme. C'est un arbuste buisonneux, aux branches très ramifiées, à l'écorce grise et aux feuilles rondes et petites.

— le cognassier aux fruits en forme de poire, appelé coignasse ou cognassier femelle ou encore cognassier pyriforme. C'est un arbuste aux branches plus droites, à l'écorce plus noire et velue et aux feuilles plus longues et plus grandes. C'est le seul cognassier recommandé.

Ces types de cognassier se multiplient bien par marcottage et les meilleurs proviennent du Gâtinais (MERLET 1667) (LA BRETONNERIE 1784) Le second auteur signale également la région de Lyon.

Vers la fin du XVII[e] siècle, on commença à greffer le Poirier sur le cognassier de Portugal. Le cognassier de Portugal (*Cydonia oblonga lusitanica* SCHNEID.) est plus vigoureux que les autres types de Cognassier. Ses feuilles sont plus longues et plus grandes. Ses fruits également plus gros ont une forme très caractéristique (fig. 9). C'est à cause de sa grande vigueur que tous les auteurs, LIGER, NOISETTE, SCOTT, DUHAMEL DU MONCEAUX le conseillent au cours du XVIII[e] siècle et la première partie du XIX[e]. Mais tous constatent qu'on ne l'utilise pas assez. La multiplication par marcottage est en effet difficile et on lui préfère les autres types de Cognassier qui se multiplient bien.

Avec le XIX[e] siècle apparaissent les grandes pépinières de la région parisienne : Fontenay-aux-Roses, Sceaux, Clamart et le développement de celles d'Orléans et d'Angers.

En 1880, « les pépiniéristes ont adopté divers types ou formes de Cognassier : on en connaît quelques uns sous le nom de cognassier de Doué (2), cognassier d'Angers, cognassier de Fontenay, du pays où ils sont propagés par cépées et vendus sur le marché » (BALTET). A partir de cette époque, il n'est plus fait mention des cognassiers maliformes, pyriformes ou de Portugal lorsqu'il est question des porte-greffes du poirier.

Vers les années 1930, est apparu dans les pépinières un autre type de Cognassier appelé cognassier de Provence. Son utilisation comme porte-greffe est due à l'initiative de MM. CHASSET, DEMOL et MOREAU qui, vers 1925, prélevèrent des cognassiers dans les haies de la région du mont Ventoux et sur la rive droite du Rhône, entre Avignon et Aramon. Les premiers essais ayant été concluants, le

(1) MERLET (1667), LAURENT (1675), VAUTIER (1676), DE BONNEFONS (1684), MERLET (1690), LIGER (1743), LE BERRYAIS (1775), ROZIER (1783), LA BRETONNERIE (1784), SAINT-GERMAIN (1784), DECAISNE et NAUDIN (1860).

(2) Doué-la-Fontaine, situé à 55 km au sud-est d'Angers.

« Provence » s'est très vite répandu dans les pépinières françaises. A l'heure actuelle, il fait l'objet d'un commerce important.

De nos jours, trois types sont utilisés : le cognassier d'Angers, le cognassier de Provence et le cognassier de Fontenay.

— Le cognassier d'Angers se multiplie très bien par voie végétative mais il n'est pas apprécié dans les régions méridionales de la France.

— Le cognassier de Provence, par contre, se multiplie moins bien mais il est plus vigoureux. De plus, les variétés de Poirier, greffées sur ce type de porte-greffe, ont une meilleure affinité et dans les sols calcaires sont moins sensibles à la chlorose. Enfin, il est mieux adapté à la sécheresse et ne conviendrait pas dans les régions trop humides.

— Le cognassier de Fontenay serait préférable aux autres types dans la région parisienne, en raison de ses radicelles plus nombreuses (NOMBLOT). Il serait, également, plus résistant au froid (PAMART).

Ces trois types de Cognassier sont des populations qui, comme nous l'avons déjà signalé, tirent leur nom du lieu où ils ont été mis dans le commerce ou, pour les « Provence », de leur lieu d'origine. Ces populations comprennent de nombreux individus de valeur inégale. Il en résulte que l'on trouve non pas une variété d'Angers ou de Provence, mais plusieurs variétés. Déjà HATTON l'avait constaté sur une collection comprenant surtout des cognassiers commercialisés soit en Angleterre, soit sur le continent.

Dans son premier rapport, paru en 1920, HATTON classe les cognassiers en sept types. A cette première classification manquaient les cognassiers de Provence. TYDEMAN, en 1947, a donné la description de quatre clones appartenant à ce groupe.

Il importait donc, pour effectuer une étude aussi complète que possible sur le Cognassier, de faire un inventaire des types déjà introduits dans les pépinières commerciales et de ceux végétant à l'état sauvage dans le Sud de la France et les pays méditerranéens.

III. — INTRODUCTION DU MATÉRIEL D'ÉTUDE

a) *Prospections et aire naturelle d'extension en France*

Elles furent effectuées en deux fois : la première en 1949, en Provence et dans les départements limitrophes (1) ; la seconde en 1955, au sud et au sud-ouest du Massif central dans les régions limitées au sud par les vallées de la Garonne et du Tarn (2).

D'après ces prospections, la limite nord de la zone où l'on rencontre le Cognassier à l'état subspontané en France est approximativement au niveau du 45e parallèle. La carte de la figure 1 montre cette limite. On peut le trouver dans des régions situées un peu plus au nord de cette ligne, mais dans ce cas, les sujets sont peu nombreux.

A l'état naturel, son extension est liée à certaines conditions écologiques. Un sol frais et humide se réchauffant bien au printemps lui convient tout particulièrement. Il est sensible aux grands froids de l'hiver. Le plus souvent on le rencontre en bordure des ruisseaux et des fossés. Quelquefois des sujets sont dans des conditions plus sèches, par exemple sur des terrasses anciennement plantées en vigne, où on a dû les cultiver pour leurs fruits. De même, dans tout le midi de la France que ce soit dans le Sud-Est ou le Sud-Ouest, le Cognassier a été beaucoup planté pour constituer des haies. Il paraît qu'autrefois il servait à borner les champs. En altitude, son extension ne dépasse pas 900 à 1 000 mètres.

(1) Alpes-Maritimes, Basses-Alpes, Hautes-Alpes, Var, Vaucluse, Bouches-du-Rhîne, Gard et Drôme.
(2) Aveyron, Tarn, Tarn-et-Garonne, Lot, Lot-et-Garonne et le sud de la Corrèze.

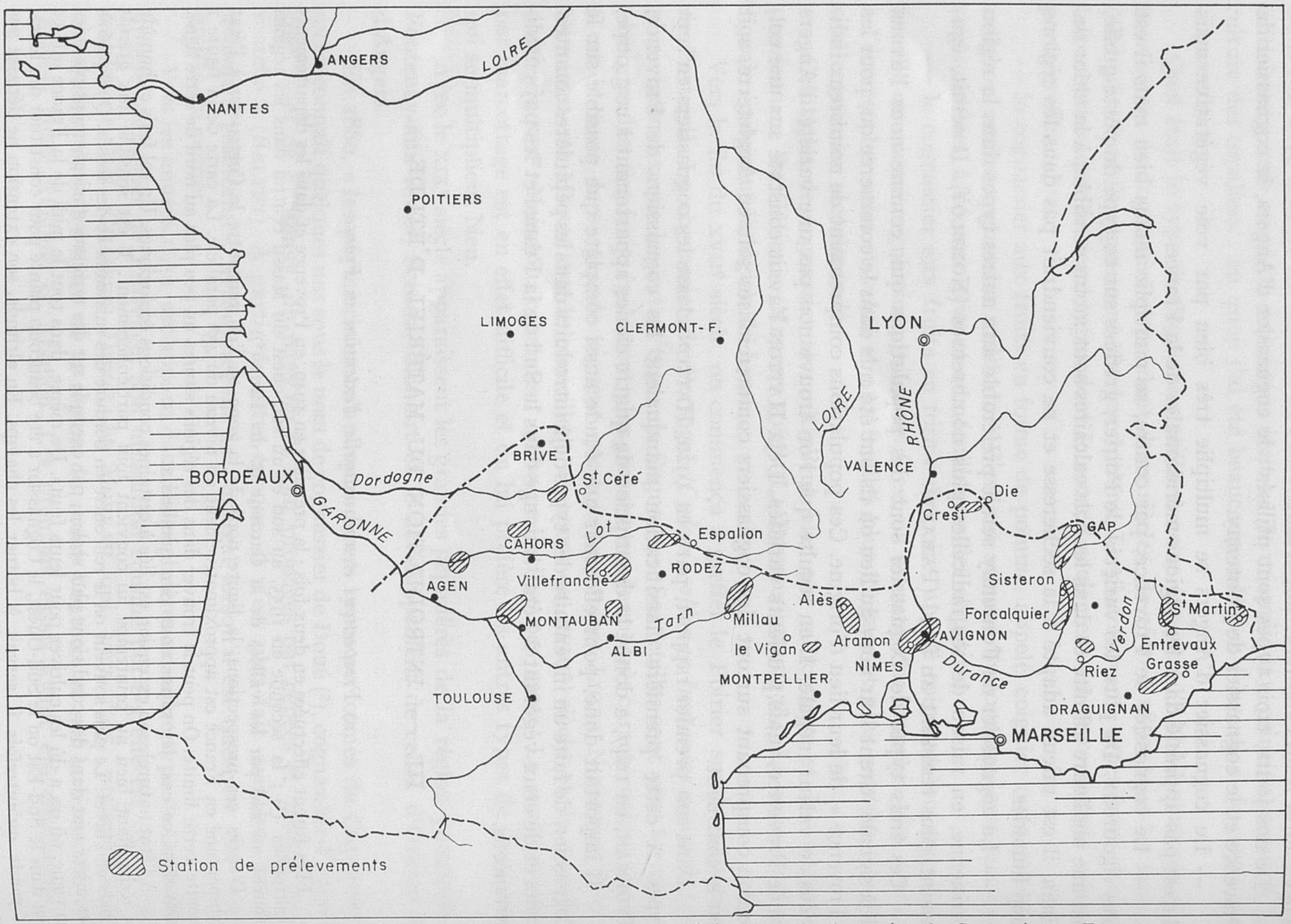


FIG. 1. — *Zones géographiques prospectées et limite Nord de l'aire naturelle d'extension du Cognassier en France*

Cette espèce méditerranéenne, probablement introduite depuis des temps très anciens en Provence, s'est progressivement étendue à toute la zone méridionale de la France, pour la production de fruits et l'établissement des haies.

La carte de la figure 1 indique les lieux où nous avons effectué des prélèvements. Ces lieux sont situés dans des zones où l'on rencontre une forte concentration de cognassiers.

b) *Autres introductions*

En plus des types provenant de ces prospections, nous avons également introduit :

— les types utilisés dans les pépinières commerciales en France et à l'étranger ;
— les sélections de la station anglaise d'East-Malling ;
— des types végétant à l'état subspontané dans différents pays méditerranéens : Israël, Italie, Égypte, Algérie, Tunisie et Portugal ;
— des clones déjà en observation dans des stations de recherches de Belgique, Italie, Israël ;
— les sélections allemandes, appelées « cognassiers de Pillnitz. »

c) *Rassemblement du matériel*

La multiplication de chacune des souches introduites fut effectuée à partir d'un seul sujet, afin de travailler par la suite sur un matériel clonal sûr. Trois cents clones furent mis en collection. D'après leur origine ces clones se répartissent ainsi :

7 clones correspondant aux sélections d'East-Malling.
32 clones reçus sous la dénomination « cognassiers d'Angers ».
50 clones reçus sous la dénomination « cognassiers de Provence ».
9 clones reçus sous la dénomination « cognassiers de Fontenay ».
2 clones reçus sous la dénomination « cognassiers d'Orléans ».
13 clones provenant de Palestine (Israël).
13 clones provenant d'Italie.
2 clones provenant du Portugal.
121 clones provenant de la prospection de Provence.
43 clones provenant de la prospection du Sud-Ouest.
10 clones d'origines diverses.

Deux collections furent plantées, l'une constituée de pieds-mères de marcottes en cépées à raison de cinq sujets par clone et l'autre de buissons à raison de quatre sujets par clone. Dans chacune d'elle d'eux clones témoins, un clone de cognassier d'Angers et un clone de cognassier de Provence furent répartis au hasard pour contrôler l'hétérogénéité du milieu.

IV. — CARACTÉRISATION DES POPULATIONS

a) *Classifications antérieures*

Nous devons signaler pour mémoire, la classification de l'abbé LEGENDRE, parue en 1652, qui fut reprise pendant deux siècles par tous les auteurs. Mais, à notre connaissance, la première étude digne d'intérêt sur le Cognassier, comme porte-greffe du Poirier, est due à HATTON en 1920. Ainsi que nous l'avons signalé plus haut, sept types furent mis en évidence. Ces types étaient des clones qui furent appelés : A, B, C, D, E, F et G.

Type A.

Est un clone de cognassier d'Angers. Il se multiplie très bien par bouturage et marcottage. Par rapport aux autres clones, sa vigueur est intermédiaire entre celles des trois derniers (E, F et G) et des deux premiers. Ses feuilles sont plus petites

que celles des clones E, F et G et plus larges que celles des deux autres. Leur couleur est jaune-vert alors que pour les types E, F et G celle-ci est d'un vert plus soutenu et que pour le C elle est jaune-clair.

Type B.

Serait le cognassier commun anglais. Il se rapproche du type A mais est moins vigoureux.

Type C.

Est très caractéristique par un port très érigé, des feuilles petites, rondes, vert clair. Il a un système radiculaire peu développé et une vigueur faible. Il ne porte jamais de fleurs.

Type D.

Est caractérisé par un port retombant, des feuilles de couleur verte et un système radiculaire grossier. Il fleurit abondamment. Les fruits, très nombreux, sont petits, très duveteux, semblables à ceux du type B. HATTON pensait, avec un doute cependant, qu'il s'agissait du cognassier de Fontenay (fig. 9).

Type E.

Est le cognassier de Portugal, *Cydonia oblonga lusitanica* (MILL) recommandé aux XVII^e^ et XVIII^e^ siècles, comme porte-greffe du Poirier, mais qui actuellement est exclusivement cultivé pour ses fruits. Il a une très mauvaise multiplication végétative. Il se caractérise par une grande vigueur, de grandes feuilles et un gros fruit (fig. 9).

Types F et G.

Ce sont, d'après HATTON, des cognassiers à fruits, jamais utilisés comme porte-greffe. Le type F a des fruits maliformes et serait le *Cydonia oblonga maliformis* (MILL). Le type G a des fruits pyriformes et serait le *Cydonia oblonga pyriformis* (KIRCHN) (fig. 10).

En 1947, TYDEMAN qui avait poursuivi les travaux de HATTON, classe les cognassiers porte-greffes en six groupes :

cognassiers d'Angers
cognassiers du type C
cognassiers de Pillnitz
cognassiers de Provence
cognassiers de Fontenay
cognassiers du type D

Dans cette classification, il n'est plus fait mention des types E, F et G qui sont des cognassiers à fruits. Le type B est inclus dans le groupe des cognassiers d'Angers. Le type D n'est plus considéré comme un cognassier de Fontenay. Les cognassiers reçus sous le nom de Fontenay à East Malling n'ont pas permis de définir les caractéristiques de ce groupe et TYDEMAN dit que certains ont les caractéristiques des cognassiers de Provence.

Les cognassiers de Pillnitz sont d'origine allemande, ils sont inconnus en France. C'est le Pr SCHINDLER qui semble les avoir sélectionnés dans un semis de cognassiers d'Angers pour leur résistance au froid. MAURER en a donné une description botanique. Cinq clones R_1, R_2, R_3, R_4 et R_5 ont été étudiés. Ce sont des cognassiers ayant les caractères des cognassiers d'Angers. Ils en diffèrent, cependant, en plus de la résistance au froid, par une chute des feuilles plus précoce, ce qui pourrait expliquer cette résistance. Le clone R_5 est différent des trois autres et se rapproche par certains caractères du groupe des cognassiers de Provence : floraison plus abondante, fruits plus gros et feuilles plus grandes.

Les cognassiers de Provence se différencient très nettement des cognassiers des autres groupes par une plus grande vigueur, un port des rameaux plus érigé, des feuilles plus grandes, plus allongées et de couleur verte ; une forte pilosité de l'extrémité des jeunes rameaux, une floraison abondante et des fruits plus gros, identiques d'après TYDEMAN à ceux du cognassier du Portugal.

b) *Caractères retenus dans notre classification*

Les principaux caractères morphologiques dont se sont servis HATTON et TYDEMAN sont les suivants :

— la couleur des feuilles au printemps,
— le port de l'arbre et le mode de croissance,
— les caractères foliaires (la grandeur, la forme, et la forme de l'extrémité),
— la couleur, la forme et les dimensions des pétales et des sépales,
— la forme, les dimensions et la couleur des fruits.

D'autres caractères, tels que la couleur du bois, le nombre et la forme des lenticelles, la forme des bourgeons... ont été également observés, mais d'après HATTON, ceux-ci présentent beaucoup moins d'intérêt.

Les caractères physiologiques comme les époques de débourrement, de floraison, de maturité des fruits et de chute des feuilles servirent aussi dans cette classification.

Pour notre étude, nous avons retenu les caractères suivants : couleur des feuilles et pubescence des feuilles et des rameaux au printemps ; port naturel des buissons ; mode de croissance des buissons et des rameaux ; forme de la feuille et grandeur du limbe et du pétiole ; importance de la floraison ; couleur des fleurs ; forme et grosseur des fruits ; importance des excroissances sur le tronc (*Burr Knots*), date de débourrement et date de floraison. La longueur moyenne des mérithalles fut aussi mesurée.

Couleur des feuilles au printemps.

Cette observation a été effectuée au mois de mai. Deux teintes de vert ont été observées : vert pâle et vert foncé. Un seul clone a les feuilles vert amande foncé.

Pubescence des feuilles et des rameaux.

Cette notation a été effectuée à la même date que pour le caractère précédent. Les pubescences des feuilles et des rameaux sont liées. Ces deux caractères sont aussi liés à la couleur de la feuille. Les types à feuilles de couleur vert pâle ont toujours une pubescence faible. Trois classes ont été établies : faible, forte et très forte.

Port naturel des buissons.

Cinq types de port ont été observés : très érigé, érigé, évasé, buissonnant et retombant (fig. 2-3-4 et 5.)

Mode de croissance des buissons et des rameaux.

Les buissons dont le port est très érigé ont des branches avec peu de ramifications et celles-ci sont assez fortes et bien droites. Par contre, les types à port buissonnant ou retombant ont des branches très ramifiées. Ces ramifications sont fines et en zigzag. Les buissons dont le port est évasé peuvent avoir les deux types de rameaux (fig. 6.)

Couleur des fleurs.

Les fleurs sont le plus souvent de couleur rose, un seul groupe de cognassier a des fleurs blanches.

Forme de la feuille, grandeur du limbe et du pétiole.

Ces caractères seront étudiés dans le chapitre suivant.

Importance de la floraison.

Les cognassiers se répartissent en quatre classes d'après ce caractère : pas de fleurs, peu de fleurs, nombreuses fleurs et très nombreuses fleurs.

Forme et grosseur des fruits.

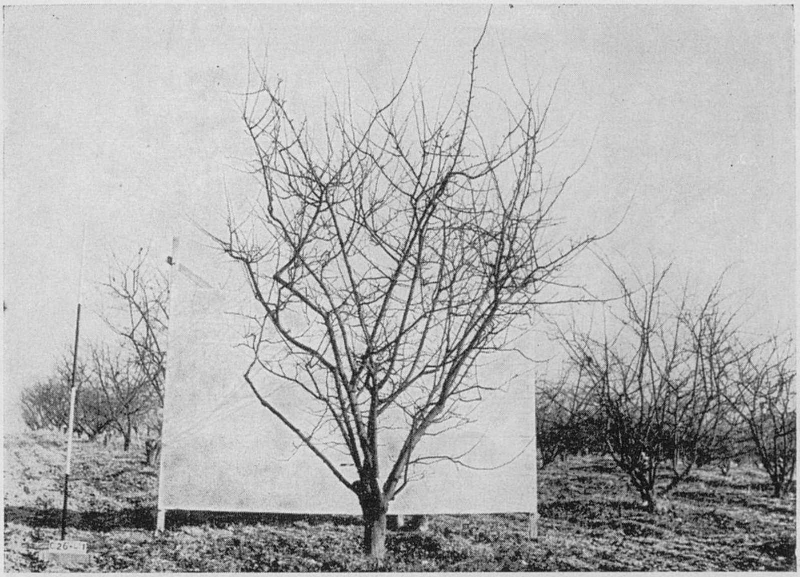
La forme du fruit est un des principaux caractères dont les botanistes se sont servi pour distinguer les différentes variétés de cognassier. D'après ce caractère, les variétés se divisent en deux grandes classes : celles à fruits maliformes et celles à fruits pyriformes ; cette deuxième classe comprenant des fruits côtelés ou non côtelés.

Dans la collection que nous avons observée, peu de clones ont des fruits maliformes (fig. 7 et 8). Ce sont, pour la plupart, des cognassiers d'Angers. Le type D a aussi des fruits maliformes, mais on rencontre quelquefois des fruits pyriformes (fig. 9). D'après HATTON, le type F d'East Malling a des fruits maliformes, ceux que nous avons récoltés semblent plus près des pyriformes que des maliformes (fig. 10). Tous les cognassiers de Provence ont leurs fruits pyriformes. Les photographies des figures 11, 12 et 13 montrent différents types de cette classe. Sur un même buisson, les fruits sont de forme assez variable et s'il est facile de distinguer un fruit pyriforme d'un maliforme, il est quelquefois assez difficile de se prononcer sur le type de forme auquel il convient d'affecter un clone.

D'autres caractères du fruit ont été observés : pubescence, couleur de l'épiderme à maturité, date de maturité. En général, ils n'ont pas apporté d'information supplémentaire permettant de différencier les clones.

Longueur des mérithalles.

Tous les clones ont sensiblement la même longueur moyenne de mérithalle, environ 26 mm. Seuls trois clones, qui nous le verrons plus loin appartiennent au même groupe, ont une longueur moyenne beaucoup plus courte. Pour chacun d'eux, cette longueur est respectivement de 16, 19 et 20 mm.



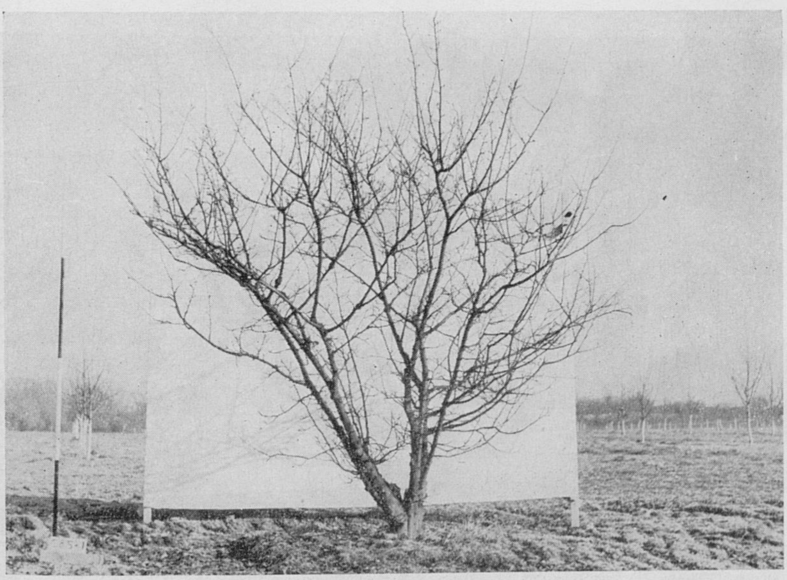


FIG. 2. — *Cognassiers de Provence*
Haut. — Port très érigé.
Bas. — Port érigé.

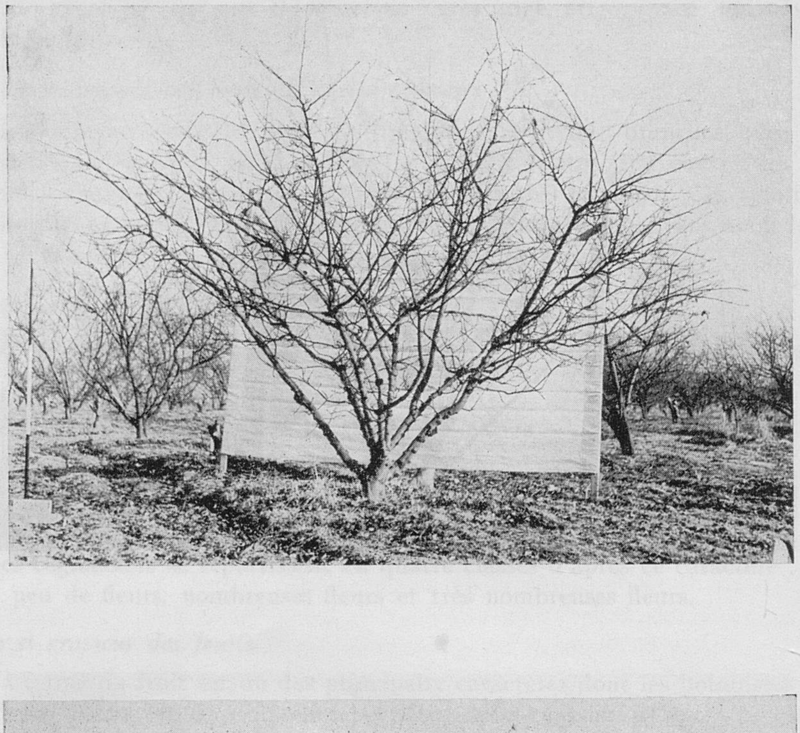


Fig. 3. — *Cognassiers de Provence — Port évasé*

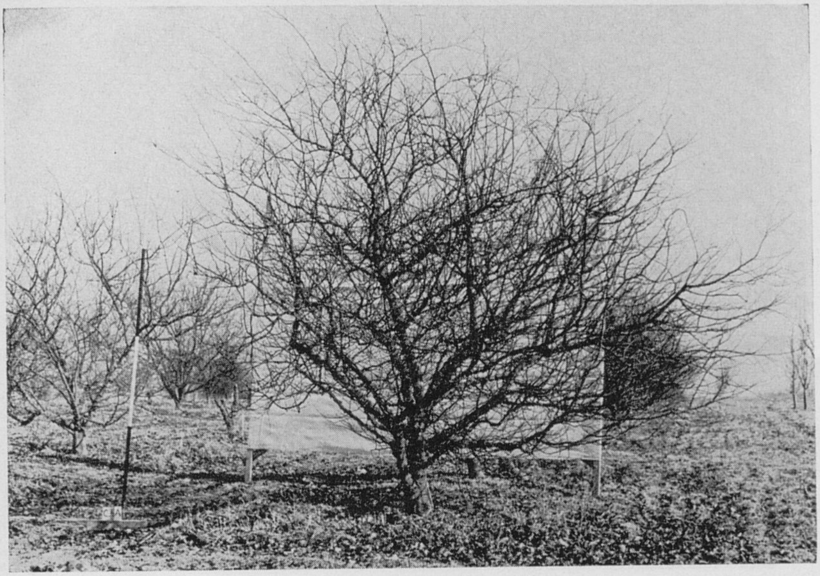




FIG. 4. — *Cognassiers d'Angers — Port buissonnant*

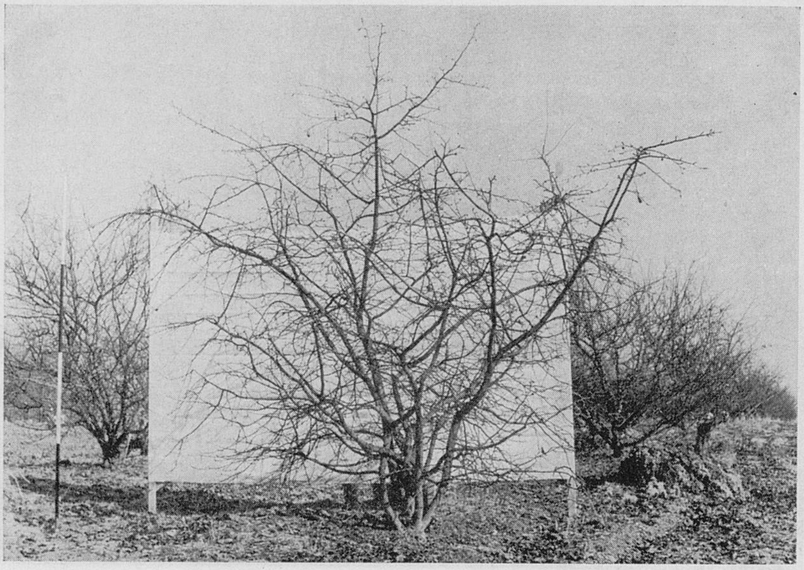
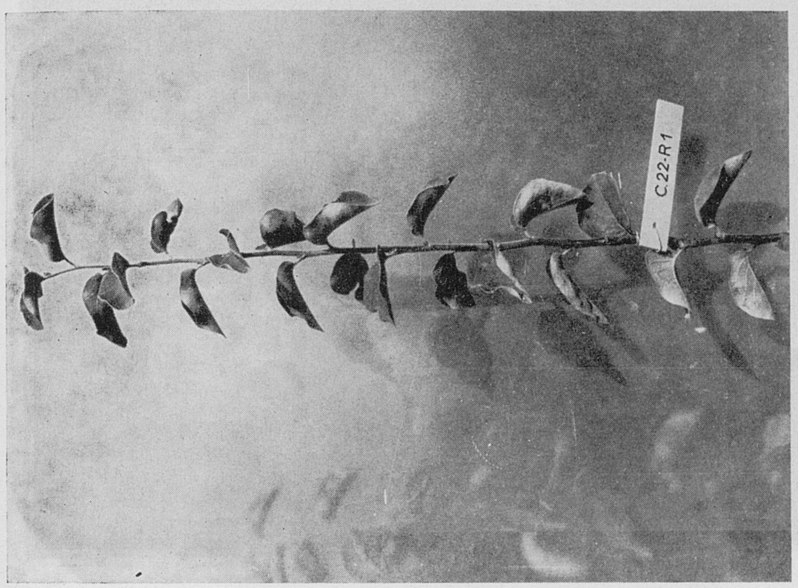
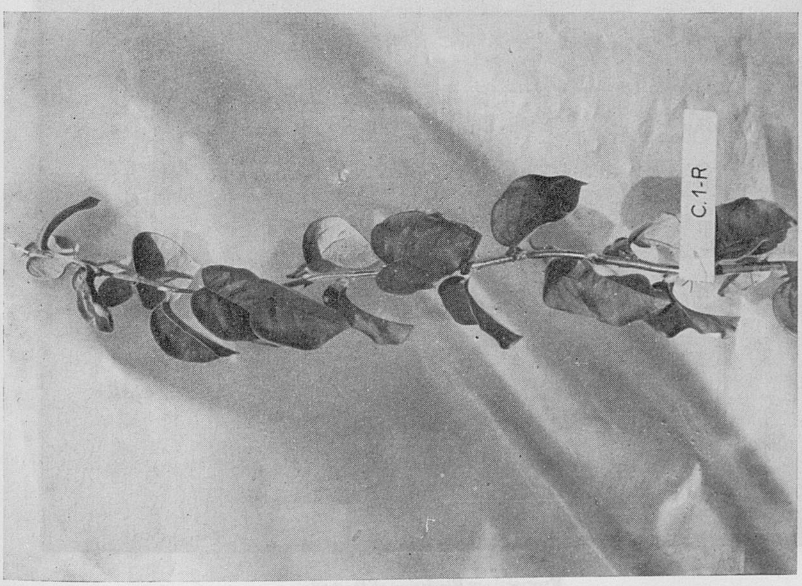




FIG. 5. — *Port retombant*

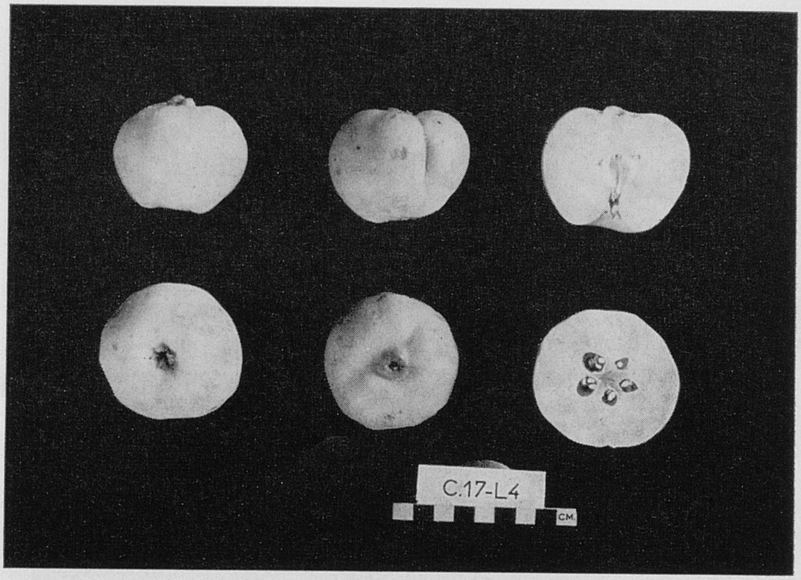


Jeune pousse de Cognassier de Provence



Jeune pousse de Cognassier d'Angers

FIG. 6.



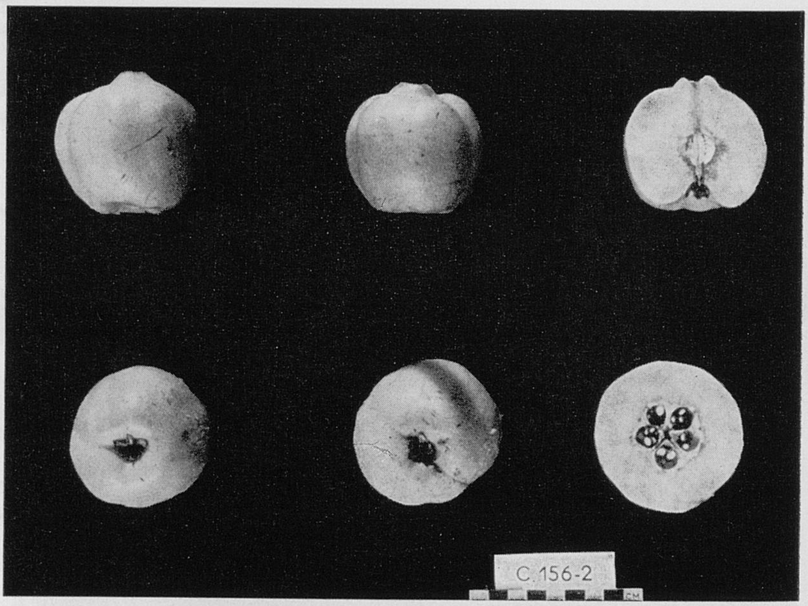


FIG. 7. — *Fruits maliformes*

Haut. — Cognassier d'Angers.
Bas. — Cognassier de Palestine.

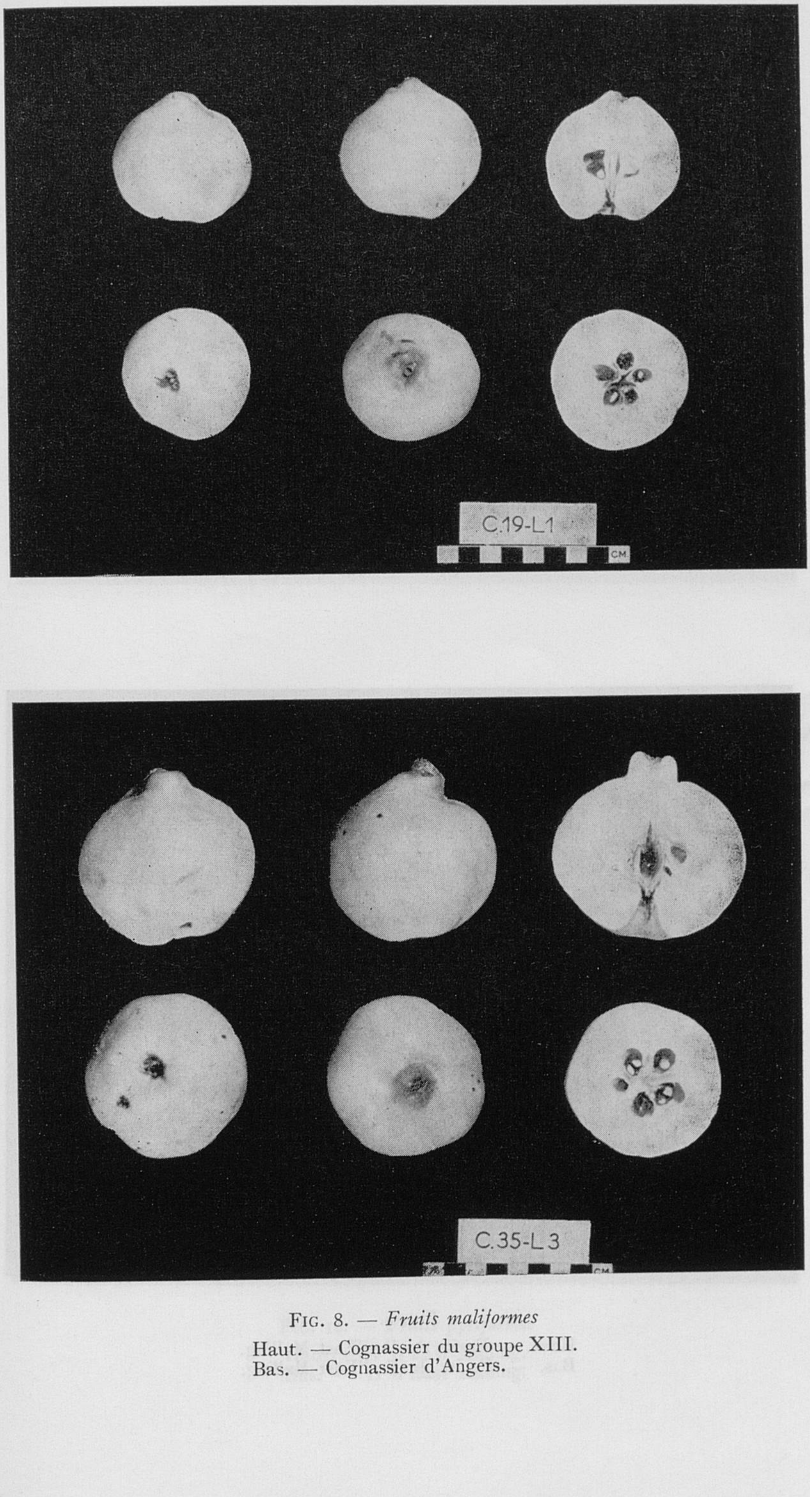


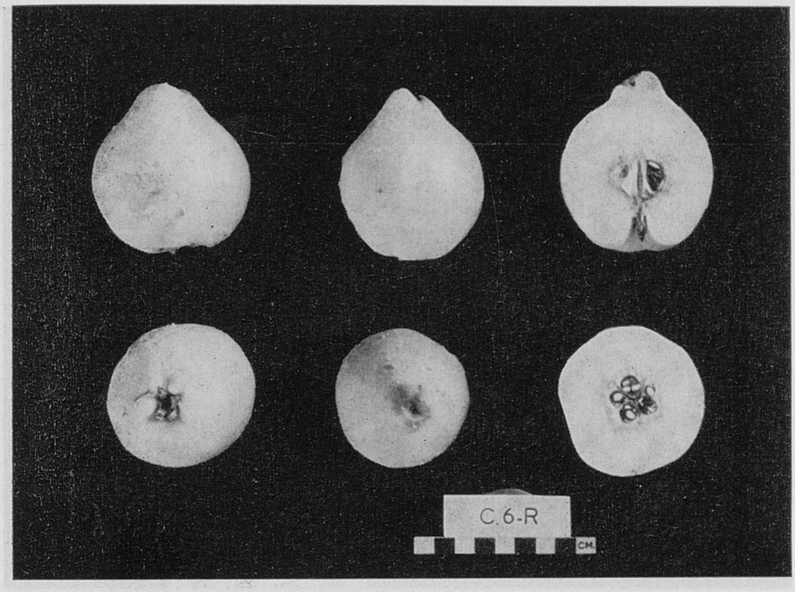
FIG. 8. — *Fruits maliformes*

Haut. — Cognassier du groupe XIII.
Bas. — Cognassier d'Angers.





FIG. 9.
Haut. — Fruits du D d'East Malling.
Bas. — Fruits du E d'East Malling.



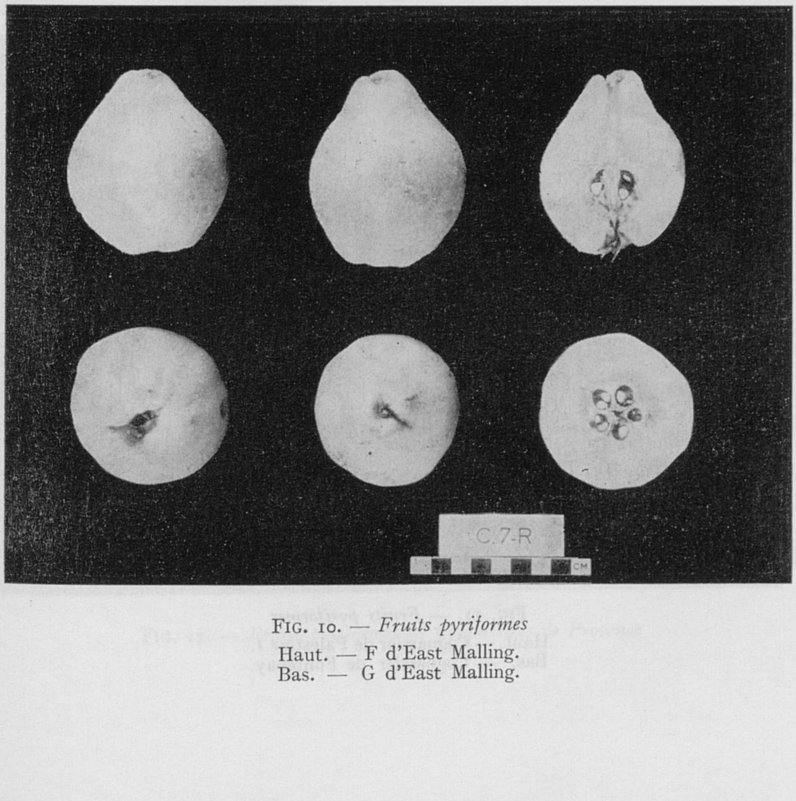
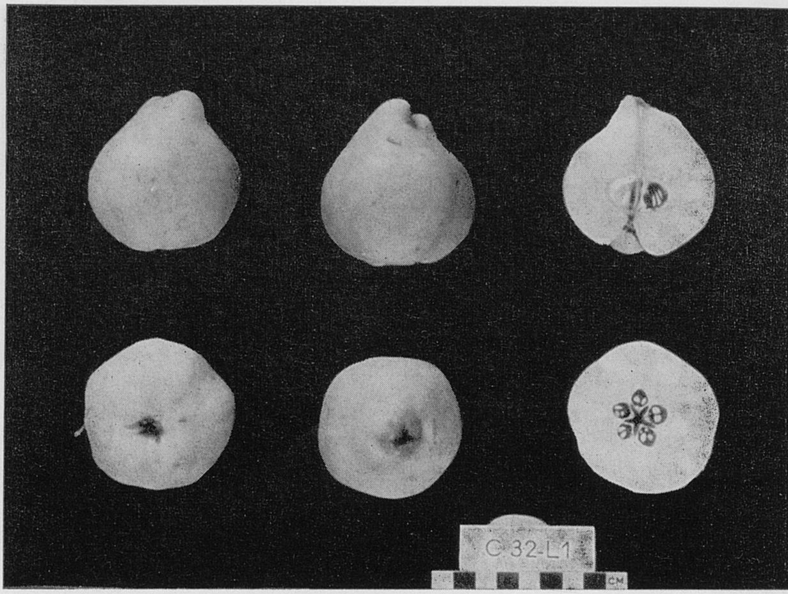


FIG. 10. — *Fruits pyriformes*
Haut. — F d'East Malling.
Bas. — G d'East Malling.



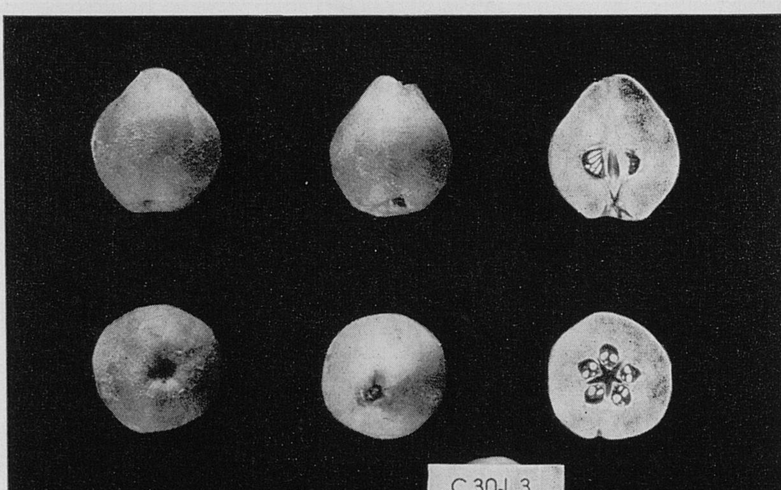


FIG. 11. — *Fruits pyriformes*

Haut. — Cognassier de Palestine *1*.
Bas. — Cognassier de Fontenay.

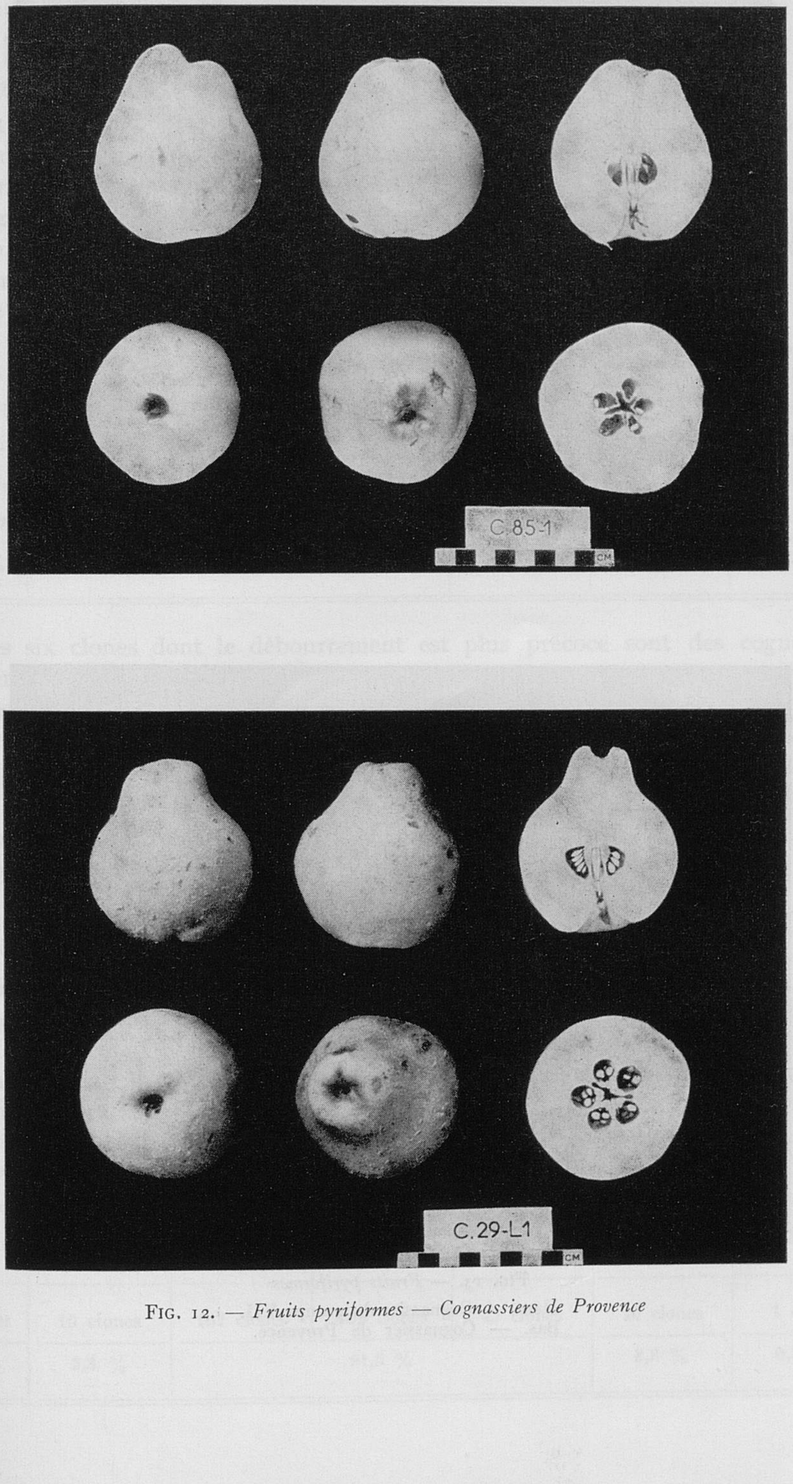
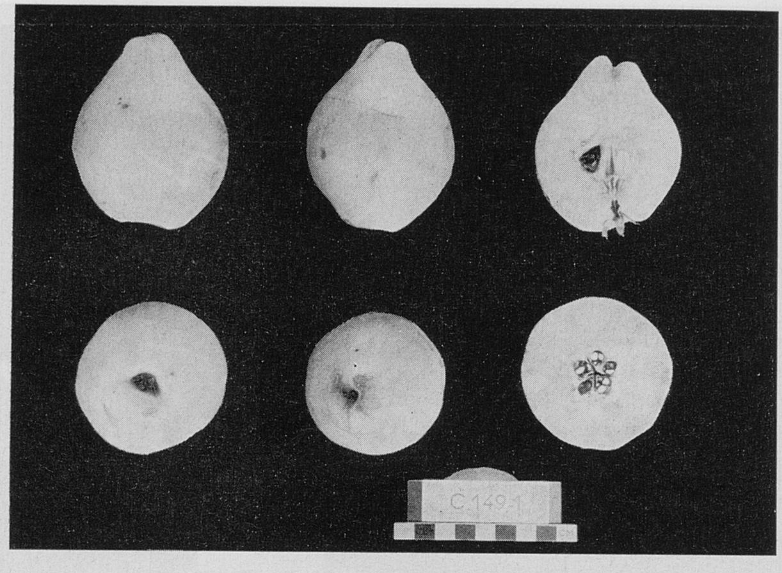


FIG. 12. — *Fruits pyriformes — Cognassiers de Provence*



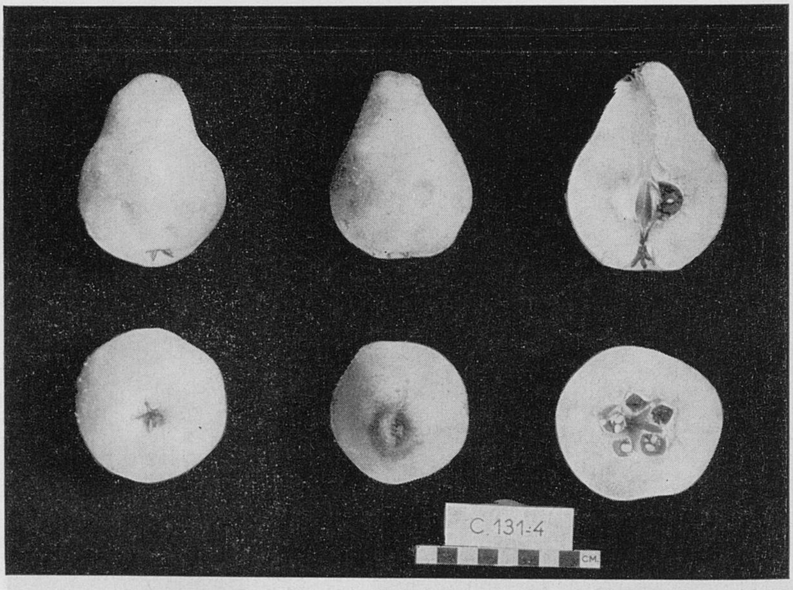


FIG. 13. — *Fruits pyriformes*

Haut. — Cognassier du groupe VII.
Bas. — Cognassier de Provence.

Excroissances sur le tronc (Burr-Knots), (fig. 14.)

Ce sont des ébauches radiculaires. D'après l'importance de ces excroissances quatre classes ont été établies.

Débourrement.

La date de débourrement est sensiblement la même pour tous les clones. Dans les conditions climatiques d'Angers, cette date se situe aux derniers jours du mois de février ou tout au début du mois de mars, avec une amplitude de fluctuation qui, certaines années, a atteint deux semaines avant ou après cette date moyenne.

Le débourrement est enregistré lorsque l'on voit apparaître l'extrémité verte des feuilles au sommet du bourgeon entrouvert (fig. 15).

Le tableau ci-dessous donne les écarts de la date de débourrement des clones à celle du clone témoin planté régulièrement dans toute la collection. Les chiffres donnés sont la moyenne de six années d'observations :

— 2 jours	— 1 jour	0	+ 1 jour	+ 2 jours	+ 6 jours	+ 13 jours
6 clones	45 clones	104 clones	76 clones	4 clones	15 clones	1 clone
2,35 %	89,6 %			1,59 %	5,9 %	0,4 %

Les six clones dont le débourrement est plus précoce sont des cognassiers d'Angers.

Les clones à débourrement plus tardif sont :

+ *2 jours* : le C d'East Malling et un clone appartenant au même groupe deux clones de cognassier de Provence.

+ *6 jours* : le D d'East Malling et cinq clones appartenant au même groupe ; les clones E, F et G d'East Malling ; deux clones provenant du Portugal ; les cognassiers de Palestine 2 et 3.

+ *13 jours* : un clone du cognassier de Provence : C. 75-8.

Floraison.

Comme pour le caractère précédent, les différences entre les clones sont faibles. D'après les observations effectuées pendant six années, la pleine floraison des cognassiers a lieu au cours du mois d'avril, quelquefois au début du mois de mai. Les dates extrêmes enregistrées ont été le 5 avril et le 7 mai. La durée de floraison est environ de deux semaines.

Le tableau ci-dessous montre les écarts de la date de floraison des clones à celle du clone témoin.

— 4 jours	— 2 jours	— 1 jour	0	+ 1 jour	+ 2 jours	+ 5 jours
2 clones	10 clones	107 clones	109 clones	47 clones	10 clones	1 clone
0,6 %	3,8 %	91,5 %			3,8 %	0,3 %

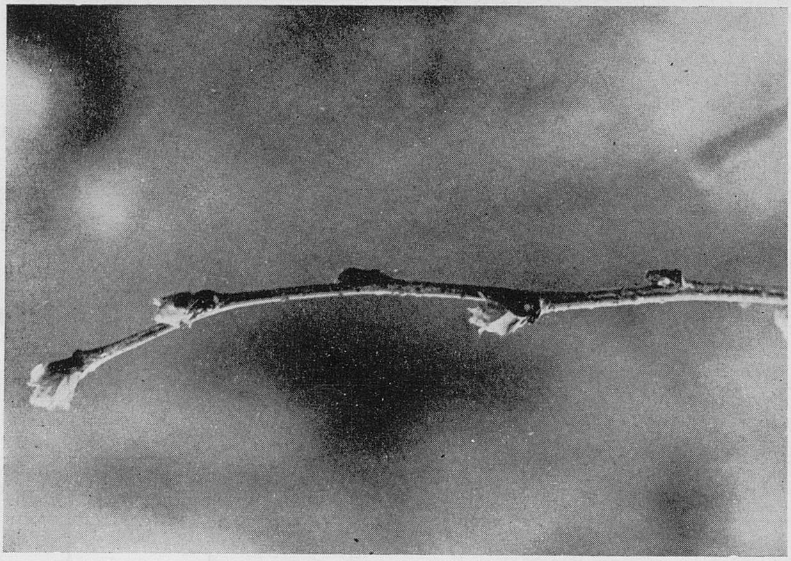


FIG. 15. — *Bourgeons au stade « Débourrement »*

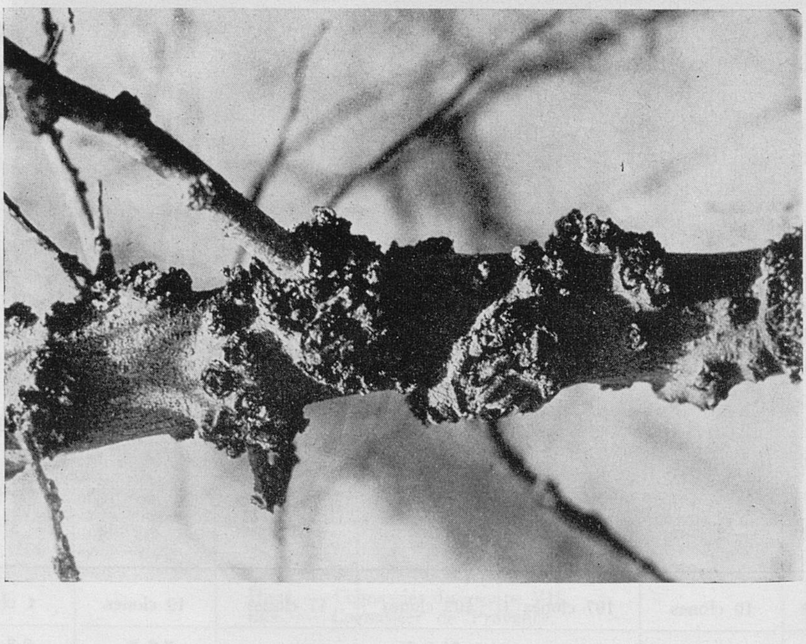


FIG. 14. — Burr-Knots *sur Cognassier d'Angers*

Douze clones ont une floraison plus précoce :

— *4 jours* : Deux clones C-101 et C-138 appartenant au même groupe.

— *2 jours* : Un clone de cognassier d'Angers et neuf clones de cognassier de Provence.

Les clones de floraison plus tardive sont :

+ *2 jours* : Cinq clones d'origine italienne.
Un clone de cognassier d'Angers.
Deux clones de cognassier de Provence.
Un clone de cognassier d'Israël.
Un clone de cognassier de Fontenay.

+ *5 jours* : Un clone de cognassier de Provence, C-75-8 qui a aussi le débourrement plus tardif.

Sensibilité à l'Entomosporiose (Fabraea maculata ATK.) (Entomosporium maculatum LEV.).

Sous nos conditions climatiques, la collection ne recevant aucun traitement antiparasitaire, les clones dont les feuilles sont vert pâle, c'est-à-dire les cognassiers d'Angers, ceux provenant d'Italie et certains provenant de Palestine, sont très sensibles à cette maladie. Les autres groupes le sont beaucoup moins.

c) *Classification proposée*

D'après la couleur des feuilles au printemps, les cognassiers se divisent nettement en deux grands groupes : ceux au feuillage vert pâle et ceux au feuillage vert foncé. Les premiers ont pour la plupart : un port buissonnant ; des feuilles et des rameaux peu pubescents ; de nombreuses excroissances sur le tronc ; peu de fleurs ; des fruits maliformes ; enfin, ils sont très sensibles à l'Entomosporiose. Les seconds, au contraire, ont pour la plupart : un port érigé ou évasé ; des feuilles et des rameaux pubescents à très pubescents ; beaucoup de fleurs ; des fruits pyriformes et ils sont peu sensibles à l'Entomosporiose.

Les cognassiers au feuillage vert pâle se divisent en cinq groupes :

les cognassiers d'Angers	groupe I
les cognassiers de Palestine 1	groupe III
les cognassiers d'Italie	groupe IV
le type C d'East Malling....................	groupe V
le type D d'East Malling....................	groupe VI

Ceux au feuillage vert foncé se divisent en huit groupes :

les cognassiers de Provence	groupe II
les cognassiers de Portugal	groupe VII
le type F d'East Malling	groupe VIII
le type G d'East Malling	groupe IX
le type E d'East Malling ou cognassier du Portugal :	groupe X
les cognassiers de Palestine 2	groupe XI
les cognassiers de Palestine 3	groupe XII
les cognassiers à mérithalles courts et à petites feuilles :	groupe XIII.

Le tableau 1 donne les principaux caractères distinctifs de ces différents groupes :

Groupe I. — Cognassiers d'Angers :

— jeunes feuilles au printemps vert pâle, peu pubescentes,
— rameaux fins, en zigzag, ramifiés, peu pubescents,
— feuilles sensibles à l'Entomosporiose,
— buissons compacts, très ramifiés,
— système radiculaire fasciculé ; de très nombreuses racines avec un « chevelu » abondant.

Groupe II. — Cognassiers de Provence.

— jeunes feuilles au printemps vert foncé, pubescentes à très pubescentes,
— rameaux forts, très droits, peu de ramifications, extrémité de la jeune pousse très pubescente,
— feuilles très peu sensibles à l'Entomosporiose,
— buissons plus vigoureux que ceux des cognassiers d'Angers, moins touffus et plus érigés,
— système radiculaire fasciculé mais ayant tendance à pivoter ; racines moins nombreuses, plus grosses et chevelu plus réduit,
— floraison généralement abondante, mais variable suivant les clones — fleurs roses,
— fruits pyriformes plus gros que ceux des cognassiers d'Angers.

Groupe III. — Cognassiers de Palestine 1.

Des cognassiers végétant à l'état sauvage en Palestine ont été envoyés à la Station d'Angers par le ministère de l'Agriculture israélien. Trois types ont été mis en évidence que nous avons appelés Palestine 1, Palestine 2 et Palestine 3. Ces trois types constituent respectivement les groupes III, XI et XII.

Les cognassiers du groupe III ont les mêmes caractéristiques que celles des cognassiers d'Angers. Cependant, leurs fruits sont presque toujours pyriformes. Cette ressemblance entre ces deux groupes de cognassiers peut faire supposer que certains cognassiers d'Angers, ceux à fruits pyriformes, tirent leur origine de la Palestine. En tous cas, nous n'avons jamais trouvé de cognassier d'Angers au cours des prospections effectuées en Provence.

Groupe IV. — Cognassiers d'Italie.

Tous les cognassiers reçus sous ce nom, forment un groupe très homogène. Ils ont aussi les caractéristiques des groupes I et III mais leurs fruits sont maliformes et leur floraison est un peu plus tardive. De plus, nous le verrons au paragraphe suivant, leurs feuilles sont un peu plus grandes et leur pétiole plus long, ce qui, pour la forme de la feuille, les rapproche des cognassiers de Provence.

Groupe V. — Cognassiers du type C d'East Malling.

Plusieurs cognassiers de ce type ont été trouvés en mélange dans des lots de cognassiers d'Angers et une fois dans un lot de cognassiers de Provence. Il n'existe pas à l'état subspontané dans le midi de la France. Dans notre collection, nous avons

TABLEAU I

	Port	Quantité de fleurs	Fruits	Excroissances sur le tronc	Longueur des mérithalles (en mm)	Époque de débourrement	Époque de floraison	Observations diverses
Feuilles vert-pâle								
I Angers	Buissonnant	Peu	Maliformes ou pyriformes	Nombreuses	26	Normale	Normale	
III Palestine 1	—	—	Pyriformes	—	26	—	—	
IV Italie	—	—	Maliformes	—	26	—	Tardive	
V C. — E.M.	Érigé à évasé	Pas de fleurs		—	26	Tardive		Petites feuilles
VI D. — E.M.	Retombant	Très nombr.	Maliformes	Aucune	24	—	Tardive	
Feuilles vert foncé								
II Provence	Érigé ou évasé	Nombreuses	Pyriformes	Aucune ou très peu	26	Normale	Normale	
VII de Portugal	—	—	—	Peu		Tardive	—	Pollen très pulvérulent
VIII F. — E.M.	Érigé	—	—	—	28	—	—	
IX G. — E.M.	—	—	—	—	26	—	—	
X E. — E.M.	Évasé	Moyenne	et cotelés	Aucune		—	—	Grandes feuilles
XI Palestine 2	Érigé	—	Pyriformes	—		—	—	Feuilles très allongées vert amande
XII Palestine 3	Évasé	Nombreuses	Maliformes et côtelés	—		—	—	Feuilles rondes épaisses
XIII à mérithalles courts	Érigé à évasé	—	Maliformes	Peu à nombreuses	18	Normale	Précoce	Petites feuilles très pubescentes

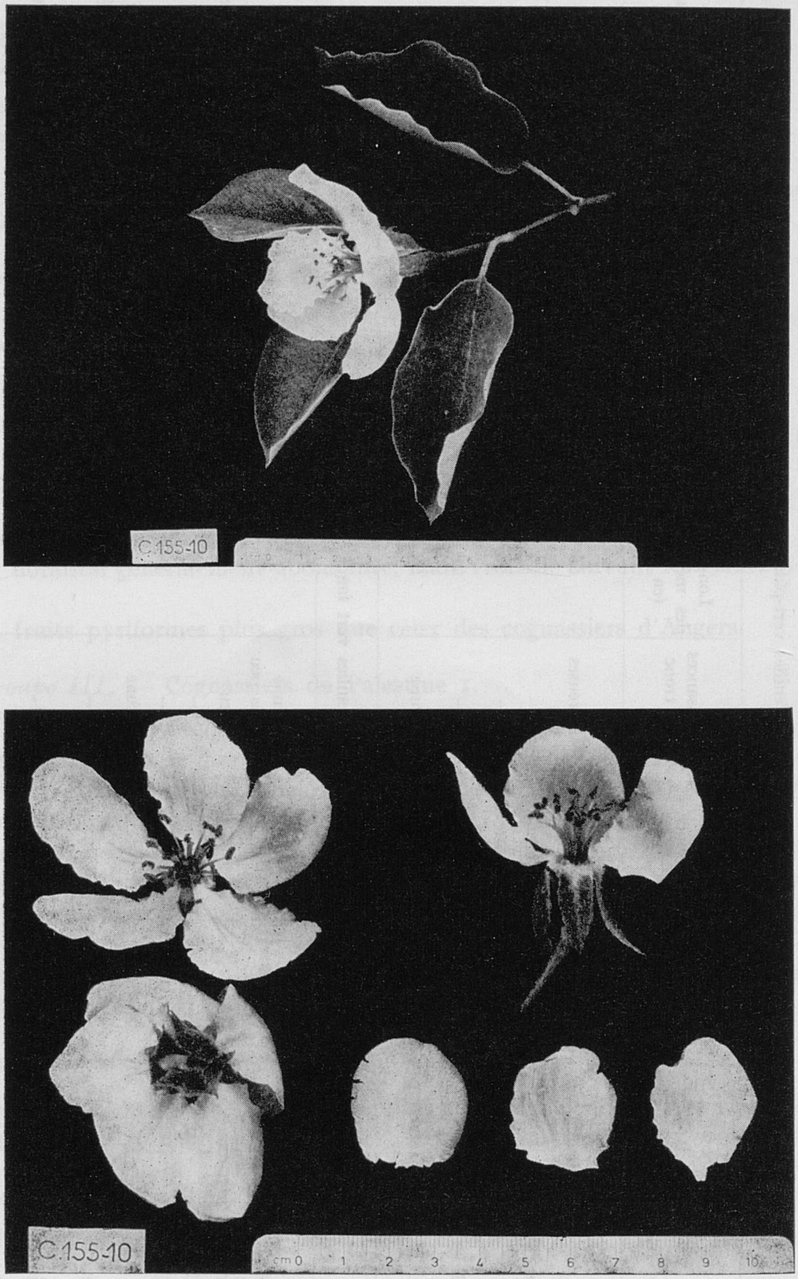


FIG. 16. — *Fleurs de Cognassier*

remarqué deux types : le type décrit par HATTON et TYDEMAN et un autre se différenciant du premier uniquement par sa vigueur un peu plus grande.

— au printemps, les jeunes feuilles sont jaunes d'or clair très peu pubescentes,
— rameaux très érigés, en zigzag avec de nombreuses ramifications dressées,
— feuilles très sensibles à l'Entomosporiose,
— buissons très caractéristiques, restant toujours très petits,
— ne porte jamais de fleurs.

Groupe VI. — Type D d'East Malling :

— jeunes feuilles vert pâle au printemps mais plus franc que celui des cognassiers d'Angers ; leur pubescence est très faible ; la face supérieure du limbe est un peu brillante,
— rameaux minces en zigzag, prenant une couleur jaune orangée après l'aoûtement,
— feuilles assez sensibles à l'Entomosporiose,
— buissons compacts très évasés et retombants,
— débourrement tardif (huit à dix jours après celui de la moyenne de la collection),
— floraison très abondante — fleurs blanches,
— petits fruits, très caractéristiques.

Six souches de ce type ont été introduites dans la collection. Elles provenaient toutes de pépiniéristes car on n'en trouve pas à l'état naturel, du moins en France. Ils ont toujours été reçus sous le nom de Fontenay. Il est probable qu'autrefois ce type de cognassier fut multiplié dans les pépinières de Fontenay et il est possible qu'il soit le cognassier appelé « coignier » par les auteurs du XVIe siècle. En tout cas, et ceci sans aucun doute, il ne s'agit pas là du cognassier de Fontenay actuellement utilisé, sur lequel nous reviendrons plus loin.

Groupe VII. — Cognassiers du Portugal.

Ces cognassiers ont été reçus du Portugal mais n'ont aucune ressemblance botanique avec le cognassier de Portugal ou *Cydonia oblonga lusitanica*. Ils possèdent les caractéristiques générales des cognassiers de Provence mais s'en distinguent par un débourrement plus tardif, un fruit pyriforme aux contours plus réguliers. De plus, les anthères ont un pollen très pulvérulent. De tous les cognassiers de la collection, seuls les types E, F et G d'East Malling sont dans ce cas. Enfin, par la forme de ses feuilles (voir paragraphe suivant) ce type de cognassier est significativement différent de tous les autres.

Groupes VIII et IX. — Types F et G d'East Malling.

Leurs caractéristiques générales les rapprochent des cognassiers de Provence. Leurs feuilles sont un peu plus grandes mais leurs fruits ne sont pas plus gros. Leur débourrement est un peu plus tardif que celui de la moyenne des cognassiers de Provence. Ils se différencient surtout de ce dernier groupe par des caractères physiologiques : comme le manque d'affinité avec les variétés de poirier.

La différenciation entre le type F et le type G est aussi très délicate. Leurs fruits sont à peu près identiques et sont dans les deux cas pyriformes. Le type F a des mérithalles plus longs que ceux du G et il bouture ou marcotte mieux que ce dernier.

Groupe X. — Type E d'East Malling.

C'est véritablement un cognassier à fruits, communément appelé cognassier de Portugal. Ses fruits sont très caractéristiques (fig. 9) et ne sont ni maliformes ni pyriformes.

Groupe XI. — Palestine 2 :

— feuilles très longues, très pubescentes, de couleur vert amande foncé,
— rameaux droits comme ceux de « Provence » mais ramifiés et très pubescents,
— buisson de vigueur moyenne, érigé à très érigé,
— floraison moyenne — fleurs roses,
— fruits pyriformes.

C'est le type de cognassier qui se différencie le plus de tous les autres. Il s'agit probablement du *C. O. pyramidalis.*

Groupe XII. — Palestine 3 :

— feuilles épaisses, rondes, à la pubescence très faible ; au printemps leur couleur est d'un vert très foncé.
— rameaux très gros, droits et très rigides,
— buisson de vigueur moyenne au port évasé,
— nombreuses fleurs roses,
— fruits maliformes, côtelés régulièrement, de maturité précoce. Ils ont peu de pépins (fig. 7).

Groupe XIII. — Cognassiers à mérithalles courts.

Ce groupe est représenté par trois clones qui ont pour caractéristiques communes :

— petites feuilles rondes qui, au printemps, ont une teinte « argentée » à cause de leur pubescence très forte :
— fins rameaux très pubescents aux mérithalles très courts,
— feuilles peu sensibles à l'Entomosporiose,
— buisson très compact, très caractéristique,
— floraison précoce,
— petits fruits maliformes (fig. 8).

Dans ce groupe, on distingue deux types :

L'un au feuillage vert clair : de vigueur faible et peu florifère. Ce type se rapprocherait des cognassiers d'Angers dans lesquels le classe TYDEMAN.

L'autre, au feuillage vert foncé, de vigueur plus grande, très florifère. Ce type se rapprocherait des cognassiers de Provence.

Les groupes V, VI, X, XI, XII et XIII sont très différents entre eux et très nettement différents des cognassiers d'Angers et de Provence. On ne les trouve pas à l'état subspontané en France sauf le second type du groupe XIII. Ils ne semblent pas présenter d'intérêt comme porte-greffe.

Dans cette classification, il n'est pas question des cognassiers de Pillnitz car nous les avons introduits récemment. Les observations effectuées les classent dans le groupe des cognassiers d'Angers.

Quant aux cognassiers de Fontenay, nous avons introduit sous cette dénomination six souches identiques au D d'East Malling, une souche qui est un cognassier d'Angers et quatre souches ayant les caractéristiques générales des cognassiers de Provence. Une souche, reçue sous le nom de cognassier d'Orléans n'est pas différente des quatre précédentes. On peut penser que cognassiers de Fontenay et cognassiers d'Orléans sont le même type. A notre avis, le véritable cognassier de Fontenay est un cognassier de Provence. Il se différencie du cognassier de Provence classique par des feuilles plus rondes et plus petites et par des fruits moins gros. Au cours des prospections de Provence, nous avons trouvé, dans la région de Riez et Moustiers-Sainte-Marie, des cognassiers très voisins, par leurs caractéristiques botaniques, des cognassiers de Fontenay.

V. — CARACTÉRISATION DES INDIVIDUS D'APRÈS L'ÉTUDE BIOMÉTRIQUE DE TROIS CARACTÈRES FOLIAIRES

a) *Choix des caractères*

Les classifications établies, soit par la Station d'East Malling, soit par nous à la suite de nos premières observations, reposaient sur des caractères permettant seulement de différencier de grands groupes. Une discrimination plus précise à l'intérieur de chacun d'eux nous était nécessaire pour nos travaux de sélection.

D'après HATTON et TYDEMAN « le genre *Cydonia* montre des variations remarquablement petites pour la plupart de ses caractères ; mais une faible ressemblance entre les sujets est souvent accompagnée de grandes différences dans leur comportement lorsque ceux-ci sont utilisés comme porte-greffes ». De plus, comme il est habituel dans toutes les populations de ce genre, les variations des caractères sont continues. Le problème se posait donc de rechercher les caractères susceptibles d'apporter la discrimination la meilleure.

Au début de cette étude, nous disposions seulement de pieds-mères de marcottes et de jeunes sujets de pépinières. Les caractères à observer étaient donc peu nombreux. La plupart d'entre eux, comme la couleur du bois, le nombre et la couleur des lenticelles, la forme des bourgeons, la longueur des mérithalles se sont révélés de peu d'intérêt. Par contre, HATTON avait remarqué en 1920 que « l'examen sérieux des feuilles adultes constitue un des meilleurs caractères d'identification ». Comme nous l'avons dit, la couleur de la feuille permet l'établissement de plusieurs groupes. Les observations effectuées ont démontré que la grandeur et la forme présentaient une grande valeur taxonomique.

Quand on examine les feuilles de l'ensemble des clones de la collection, on s'aperçoit qu'elles varient entre une forme ronde (fig. 17) et une forme elliptique (fig. 18). Une gamme continue de formes relie ces deux extrêmes. De plus, la longueur du pétiole est très variable selon les clones. On pouvait donc espérer que des mesures suffisamment nombreuses et exploitées par des méthodes statistiques mettraient en évidence des différences non seulement entre les grands groupes, mais aussi entre les clones à l'intérieur des groupes.

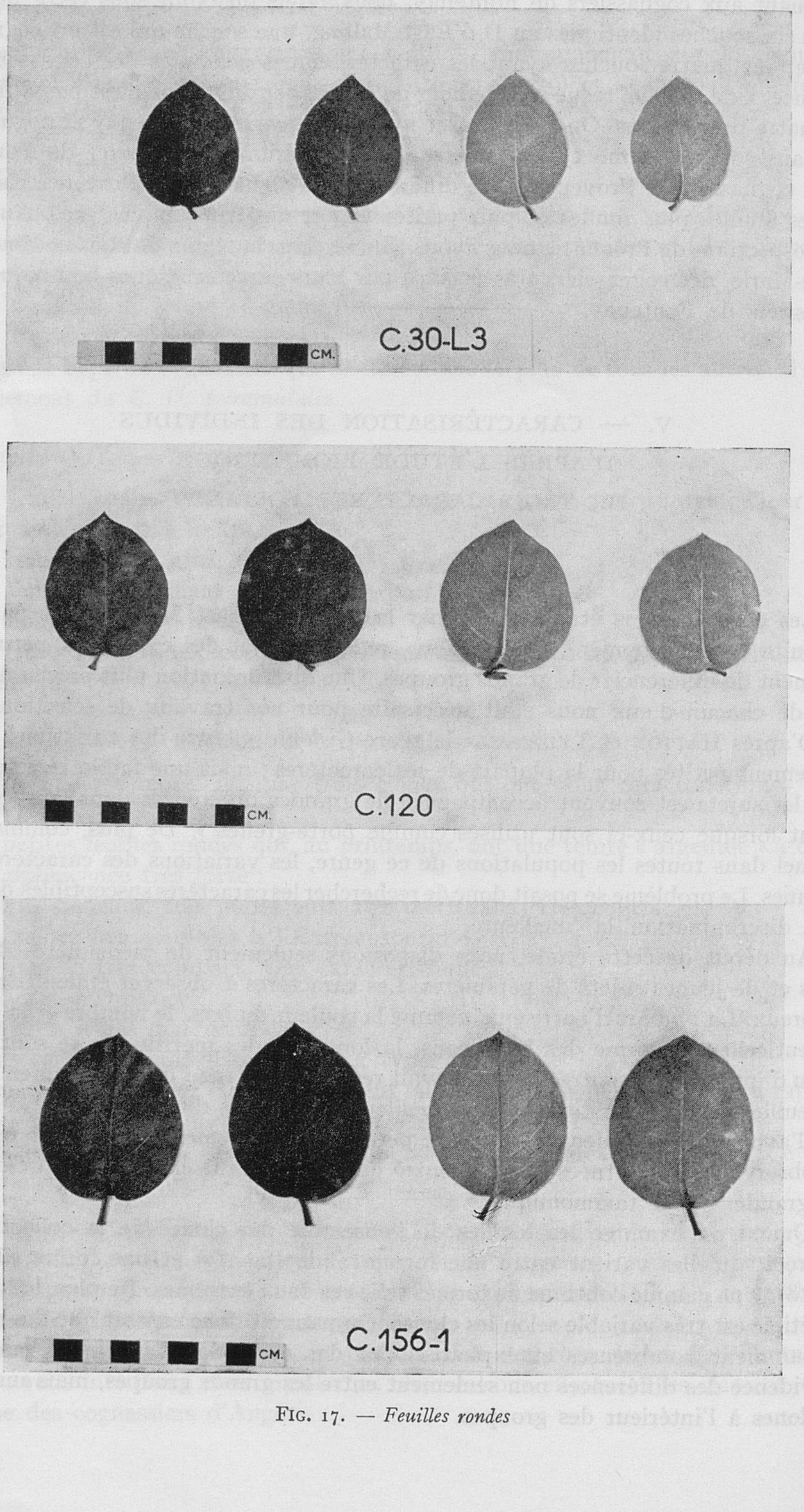


FIG. 17. — *Feuilles rondes*

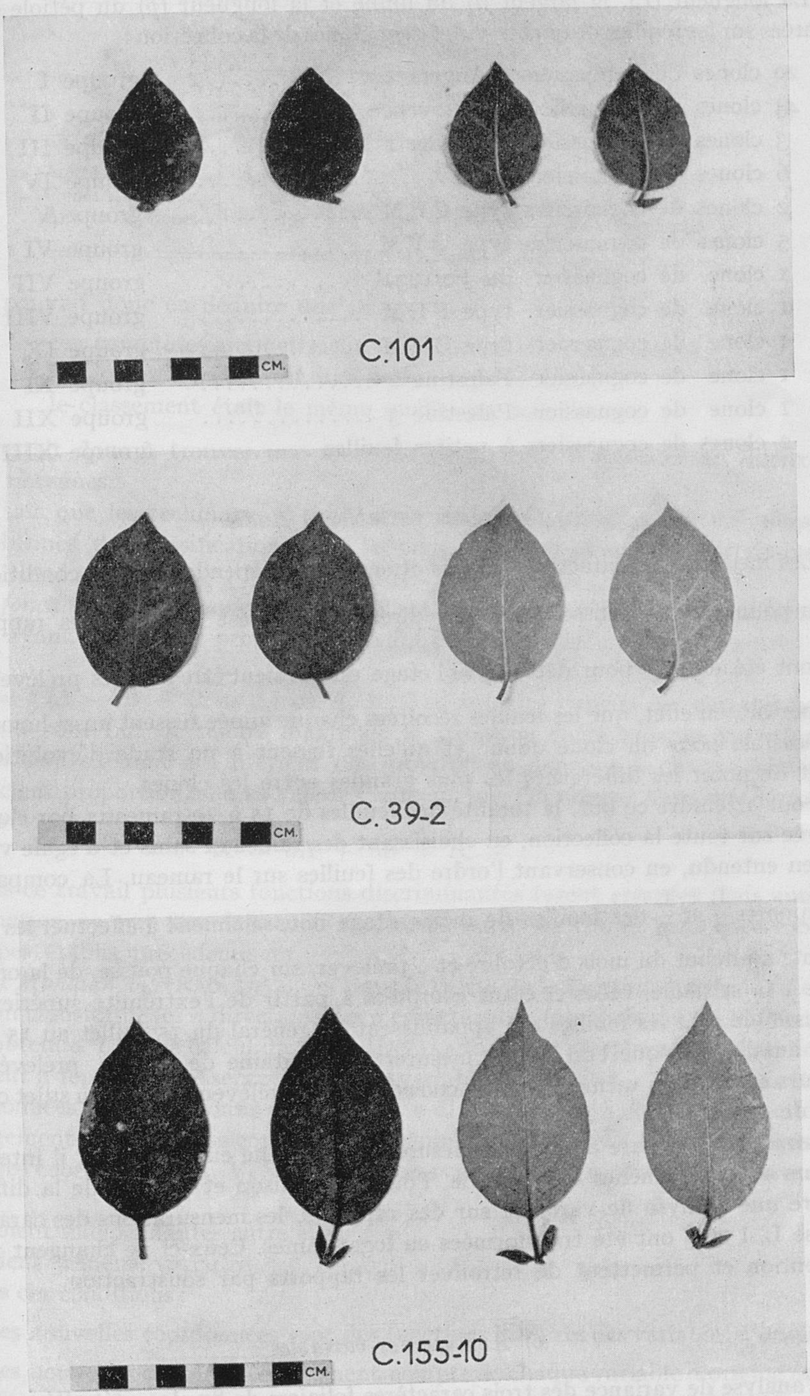


FIG. 18. — *Feuilles allongées*

La longueur (L), la largeur (l) du limbe et la longueur (p) du pétiole ont été mesurées sur les feuilles de quatre-vingt-sept clones de la collection :

20 clones de cognassiers d'Angers	groupe I
44 clones de cognassiers de Provence	groupe II
3 clones de cognassiers Palestine 1	groupe III
6 clones de cognassiers Italie	groupe IV
2 clones de cognassiers type C E M	groupe V
5 clones de cognassiers type D E M	groupe VI
1 clone de cognassier du Portugal	groupe VII
1 clone de cognassier type F E M	groupe VIII
1 clone de cognassier type G E M	groupe IX
1 clone de cognassier Palestine 2	groupe XI
1 clone de cognassier Palestine 3	groupe XII
2 clones de cognassiers à petites feuilles	groupe XIII

b) *Choix des variables à étudier*

Les mesures des caractères choisis étaient trop dépendantes des conditions du milieu pour que l'on puisse les utiliser directement. C'est pourquoi les rapports $\frac{L}{l}$ et $\frac{L}{p}$ ont été adoptés pour déterminer l'étage où devaient être faits les prélèvements. Il importait, en effet, que les feuilles récoltées chaque année fussent aussi homogènes que possible pour un clone donné et qu'elles fussent à un stade d'évolution qui permît de noter les différences les plus grandes entre les clones.

Pout atteindre ce but, la totalité des feuilles de 15 à 20 rameaux par clone fut prélevée sur toute la collection, en choisissant des rameaux sains et d'égale vigueur et, bien entendu, en conservant l'ordre des feuilles sur le rameau. La comparaison des rapports $\frac{L}{l}$ et $\frac{L}{p}$ des feuilles de même étage nous a amené à effectuer les prélèvements au début du mois d'octobre et à prélever, sur chaque pousse, de la onzième feuille à la seizième, celles-ci étant comptées à partir de l'extrémité supérieure de la pousse (ce sont les feuilles qui apparaissent en général du 15 juillet au 15 août). Il fut aussi établi que l'on devait mesurer une centaine de feuilles, prélevées sur plusieurs sujets d'un même clone, en considérant le prélèvement sur un sujet comme unité de répétition.

Lorsqu'on compare différentes mesures d'un organe en croissance, il intervient toujours des phénomènes d'allométrie. Pour cette raison et à cause de la difficulté de faire une analyse de variance sur des rapports, les mensurations des caractères de base L, l et p ont été transformées en logarithmes. Ceux-ci ne changent pas la distribution et permettent de retrouver les rapports par soustraction.

c) *Analyse des variables*

L'analyse de variance des trois caractères foliaires de 87 clones étudiés pendant trois années (de 1952 à 1954) a donné les résultats ci-après.

	F calculé			Signification à p = 0,05
	L	l	p	
Années	1 100	600	1 300	Très significatif
Clones	27	25	51	Significatif
Années × clones .	1,9	1,7	2,5	Non significatif

On pouvait donc en déduire que :

ces caractères permettaient la différenciation des clones ;
le facteur année avait une action significative ;
le classement était le même quelle que soit l'année.

Il restait donc à trouver une méthode permettant d'exploiter au mieux les données obtenues.

On sait que les techniques d'analyse de variables multiples ont été adaptées aux problèmes de classification sous le terme général d'analyse discriminante (FISHER, 1936 ; KENDALL, 1951 ; RAO, 1952)

La fonction discriminante de FISHER est une fonction linéaire de différentes mesures ayant une valeur propre et pouvant être liées elles-mêmes à d'autres mesures.

$X = f(A + B + C + ...)$ où A, B, C ... sont les valeurs des caractères.

Elle a pour but de rendre maximale la variation entre groupes par rapport à la variation existant à l'intérieur des groupes, en donnant à chaque caractère un coefficient proportionnel à sa valeur taxonomique. On obtient alors une équation du genre :

$$X = aA + bB + cC + ...$$

Dans ce travail plusieurs fonctions discriminantes furent essayées mais aucune discrimination ne put être faite non seulement entre les clones mais encore entre les groupes établis précédemment.

D^2 de Mahalanobis (RAO, 1952). — Dans le calcul de la fonction discriminante de FISHER on transforme les n directions des n caractères en une seule qui est la fonction linéaire obtenue. Dans le calcul du D^2 de MAHALANOBIS, on remplace les n directions, qui servent à repérer les observations (les n variables d'origine $X_1, X_2, X_3 ... X_n$ étant les coordonnées des points dans cet espace à n directions) par n nouvelles directions. Ce changement de directions consiste à déterminer de nouveaux axes de références tels que les coordonnées $Y_1, Y_2 ... Y_n$ des observations par rapport aux nouveaux axes :

— soient indépendantes entre elles
— aient la même variance.

Dans ces conditions :

1° Les nouvelles coordonnées sont des fonctions linéaires des variables d'origine.

2° Les nouvelles coordonnées tiennent compte de chaque variable d'origine dans la mesure ou leur fluctuation est faible. On a alors un changement d'échelle de chacune des variables.

3° Il devient possible de calculer la distance entre deux points observés dans ce nouveau système par la relation :

$$D^2 = (Y'_1 - Y_1)^2 + (Y'_2 - Y_2)^2 + \dots (Y'_n - Y_n)^2$$

Pour isoler les groupes de clones on utilise le système suggéré par K. D. TOCHER (cité par RAO) : on prend deux clones C_1 et C_2 dont la distance entre eux est très petite par rapport à celles de tous les autres, puis on cherche un troisième clone C_3 dont la moyenne distance par rapport aux deux premiers est également très petite. On ajoute ainsi des clones jusqu'au moment où la distance moyenne du dernier clone ajouté s'élève rapidement par rapport aux distances moyennes obtenues jusque-là. On admet alors que ce dernier clone n'appartient pas au groupe formé par les premiers. Il est bon également de calculer la variation de la moyenne D^2 à l'intérieur du groupe à chaque introduction d'un nouveau clone. Si un changement appréciable apparaît, le dernier clone ajouté doit être considéré comme appartenant à un autre groupe.

d) *Méthode suivie dans cette étude*

Après avoir calculé les nouvelles variables transformées Y_1, Y_2 et Y_3 par une inversion de la matrice des variances et covariances des caractères originaux, les valeurs D^2 de tous les clones entre eux ont été calculées. Les valeurs Y_1, Y_2, Y_3 sont données pour chaque clone par les relations :

$$\begin{aligned} Y_1 &= 0{,}022\,024\ X_1 \\ Y_2 &= 0{,}051\,706\ X_2 - 0{,}053\,753\ X_1 \\ Y_3 &= 0{,}016\,205\ X_3 - 0{,}003\,296\ X_2 - 0{,}014\,441\ X_1. \end{aligned}$$

Dans cette étude, nous n'avions que trois caractères, il était donc possible de placer les clones dans un espace à trois dimensions et, par conséquent, de les situer d'après leur projection sur un plan horizontal et un plan vertical. Pour cela, nous avons calculé les équations des trois axes de coordonnées :

$$\begin{aligned} W_1 &= -\ 0{,}023\,952\ X_1 + 0{,}028\,793\ X_2 + 0{,}041\,090\ X_3 - 32{,}279\,528 \\ W_2 &= +\ 0{,}000\,301\ X_1 + 0{,}049\,795\ X_2 - 0{,}029\,991\ X_3 - 4{,}660\,319 \\ W_3 &= +\ 0{,}104\,550\ X_1 + 0{,}076\,991\ X_2 - 0{,}011\,990\ X_3 - 17{,}240\,704 \end{aligned}$$

où X_1, X_2, X_3 sont respectivement, comme dans les relations précédentes, les valeurs en logarithmes des données originales L, l et p. Ces trois relations sont des fonctions discriminantes de FISHER.

Cette représentation graphique présente certains avantages :

éviter le calcul des D^2 entre tous les clones, ce qui est très long ;
permettre le calcul d'une différence significative entre les clones.

Les plus petites différences significatives pour les trois directions W_1, W_2 et W_3 ont été calculées d'après les mensurations de 26 clones effectuées pendant sept années (de 1955 à 1960 et en 1962).

Les représentations graphiques de chacune des sept années ont montré que, si le classement était identique quelle que soit l'année, la position de l'ensemble des clones d'une année à l'autre n'était pas la même par rapport aux axes. Ceci était prévisible d'après l'analyse de variance que nous avons donnée précédemment. Il fut donc nécessaire de les ramener chaque année à une même origine.

Les calculs effectués sur les valeurs ainsi corrigées ont donné pour variance de l'erreur :

$$\begin{aligned} \text{pour } W_1 \quad S^2 &= 78{,}00 \\ \text{pour } W_2 \quad S^2 &= 41{,}40 \\ \text{pour } W_3 \quad S^2 &= 30{,}80 \end{aligned}$$

Deux cent vingt-trois clones de la collection furent mesurés, chacun au moins pendant trois années. Mais il ne fut pas possible de les mesurer tous pendant les mêmes années. Aussi fallut-il vérifier la validité des comparaisons des clones lorsque leurs cotes provenaient de groupes d'années

différentes. Pour cela nous avons établi, à partir des mensurations des vingt-six clones, cinq groupes de trois années et comparé leurs variances de l'erreur avec celles des sept années.

	1955 à 60 et 62	1955-56-58	1955-58-59	1955-57-58	1958-59-60	1958-59-62
W_1	78,00	58,5	43,00	96,83	54,85	51,61
W_2	41,4	34,9	35,25	43,70	35,65	24,02
W_3	30,8	28,5	20,08	32,48	15,92	26,42

Le rapport des variances de chacun de ces groupes de trois années avec celles des sept années est toujours inférieur au F de la table pour $P = 0{,}05$ (qui dans ce cas est de 1,50), sauf :

pour W_1 pour le groupe d'années 1955-58-59
pour W_2 pour le groupe d'années 1958-59-62
pour W_3 pour le groupe d'années 1958-59-60

Mais dans ces cas les variances sont nettement plus petites, on peut donc admettre que les comparaisons sont valables quels que soient les groupes d'années des mensurations.

La plus petite différence significative calculée à partir des mesures des vingt-six clones de sept années est :

pour W_1 p.p.d.s. = 9,5
pour W_2 p.p.d.s. = 7,0
pour W_3 p.p.d.s. = 6,0

Ces résultats permettent de placer de nouveaux clones sur les graphiques à condition de mesurer leurs feuilles pendant trois années et de mesurer aussi, pendant les mêmes années, les clones témoins pour effectuer le changement d'origine.

Nous avons vérifié enfin si l'emplacement des clones dans la collection, ou si le lieu de prélèvement avait une incidence significative sur les mesures des feuilles. D'après les mensurations des feuilles de deux clones témoins répétés onze fois dans la collection et les prélèvements effectués dans deux collections situées en des lieux différents, il a été démontré que le lieu de prélèvement n'avait aucune incidence.

e) *Résultats obtenus*

Les résultats sont présentés à l'aide de graphiques. Chaque graphique comporte deux plans de projection des clones : l'un correspond aux axes W_1, et W_2 et l'autre aux axes W_1 et W_3. Sur chaque plan, sont portées deux droites perpendiculaires dont la longueur est égale à la plus petite différence significative pour W_1, W_2 et W_3.

Il n'est pas facile de déterminer la forme exacte des feuilles d'après la position des clones dans ce système. Les cognassiers de chaque clone sont en effet la résultante de trois combinaisons dans lesquelles rentrent les trois caractères L, *l* et *p* chacun affecté d'un exposant qui lui donne sa valeur taxonomique. Cependant, on peut dire que :

— les valeurs W_1 augmentent avec la grandeur des feuilles.

— les valeurs W_2 correspondent sans que ce soit rigoureusement absolu au rapport $\frac{l}{p}$. En effet si l'on examine la relation :

$$W_2 = + 0{,}000\,301\, X_1 + 0{,}049\,795\, X_2 - 0{,}029\,991\, X_3 - 4{,}660\,319$$

on remarque que le multiplicateur de X_1 est très faible par rapport à ceux de X_2 et de X_3. La valeur de W_2 dépend donc surtout des valeurs de *l* et de *p*. En considérant ces valeurs *l* et *p* suivant la position des clones d'après l'axe W_2 on voit que

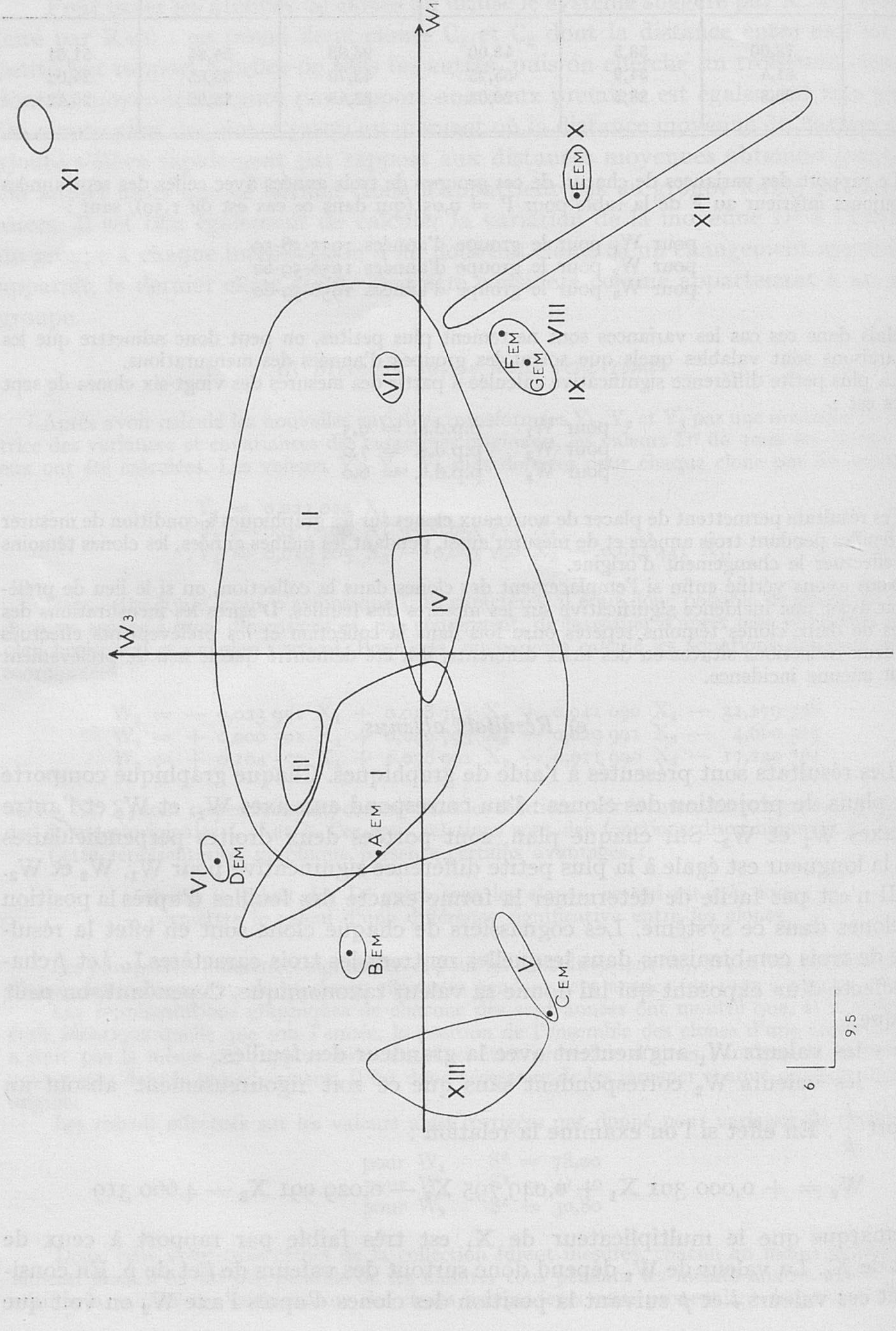


FIG. 19. — *Ensemble des différents groupes de cognassier*

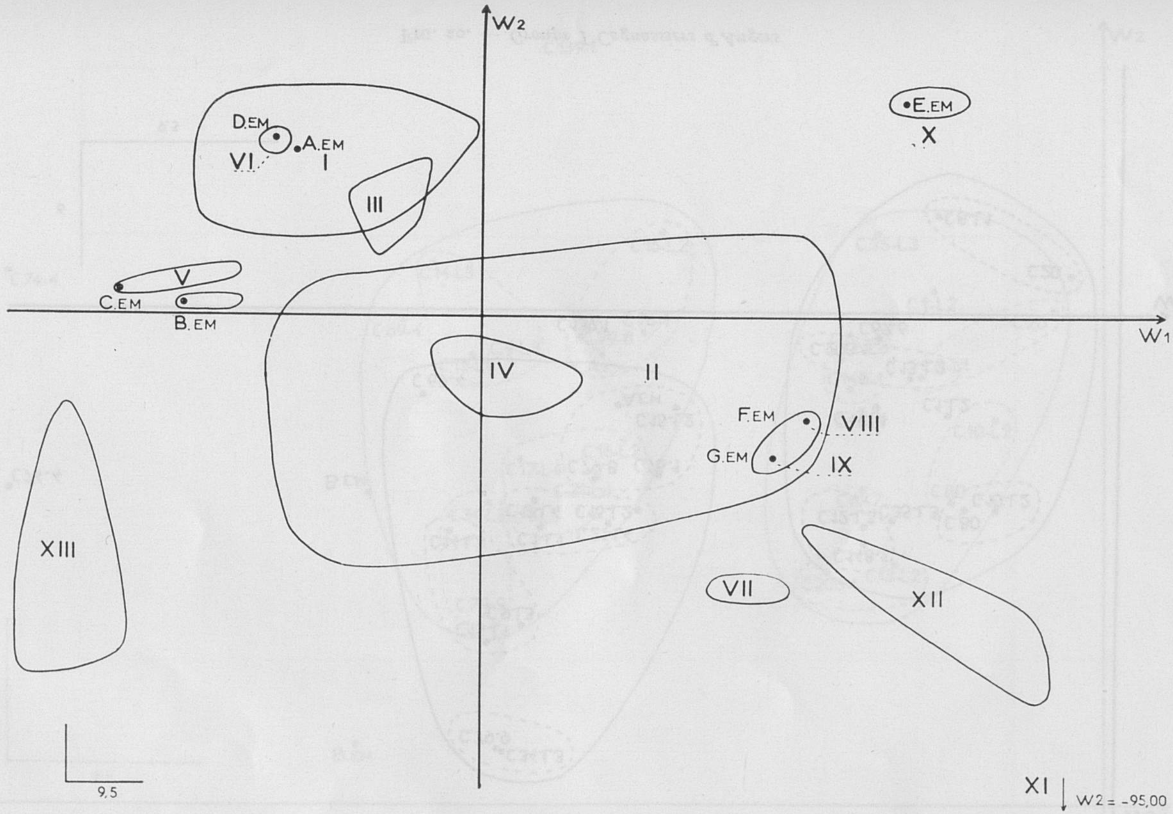


FIG. 19. — *Ensemble des différents groupes de cognassier*

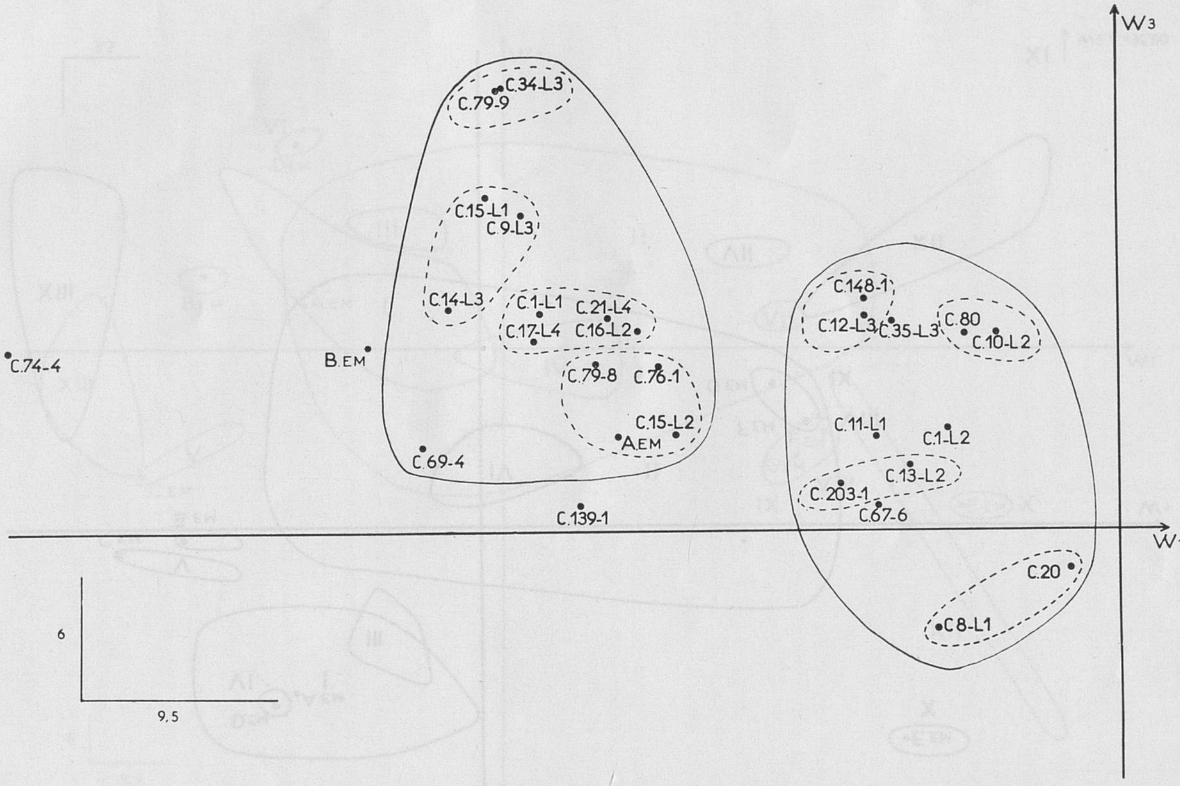


FIG. 20. — *Groupe I Cognassiers d'Angers*

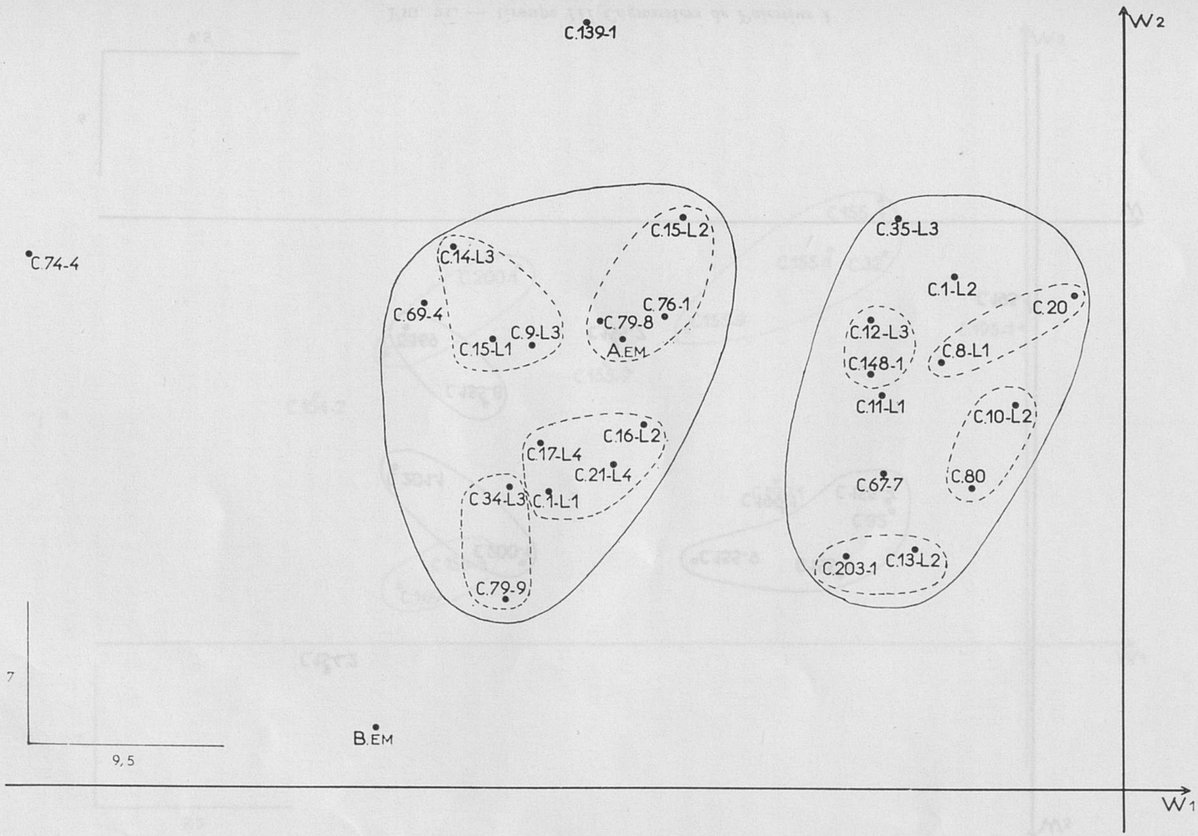


FIG. 20. — *Groupe I — Cognassiers d'Angers*

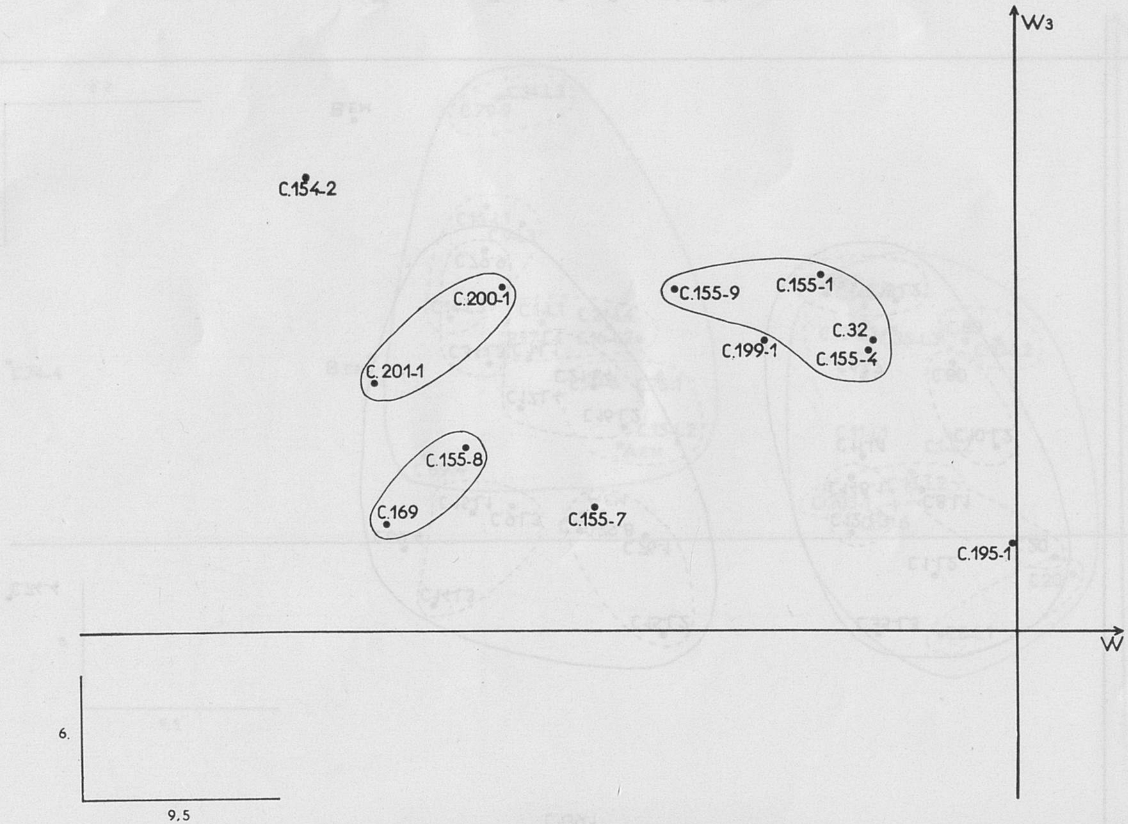


FIG. 21. — *Groupe III Cognassiers de Palestine 1*

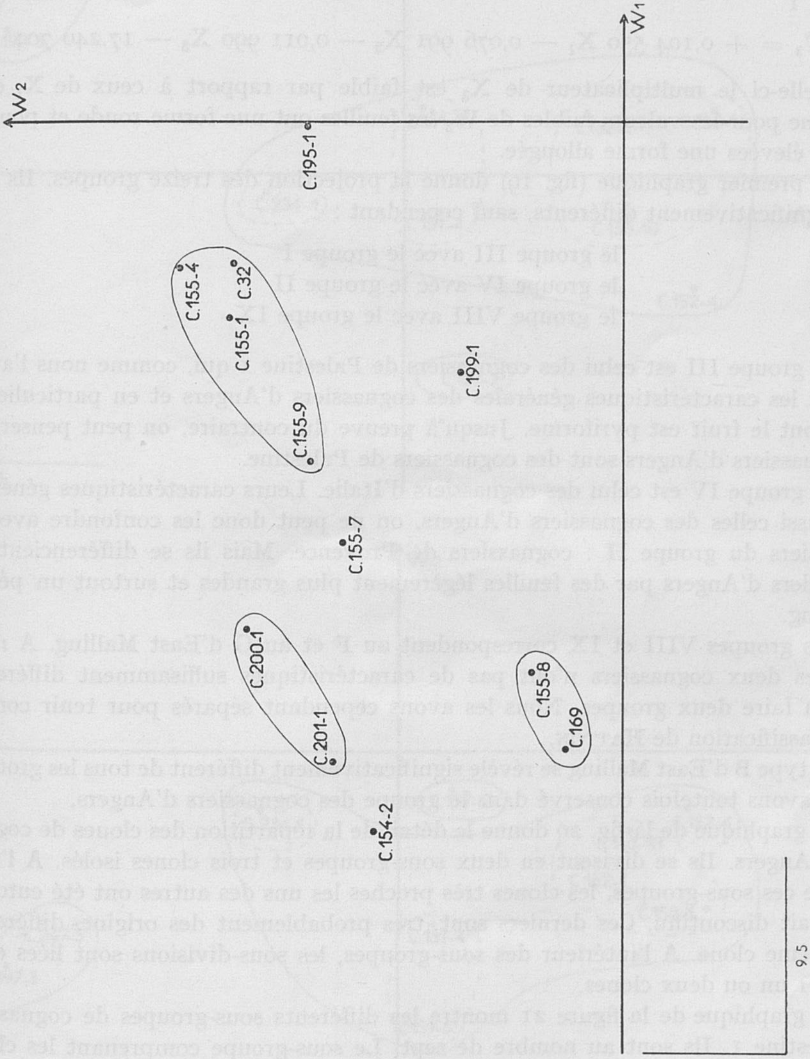


FIG. 21. — *Groupe III — Cognassiers de Palestine 1*

ce rapport augmente ou diminue surtout d'après la valeur de p. Si bien que l'on peut dire que les clones ayant une valeur faible pour W_2 ont généralement un pétiole plus long que ceux des clones qui ont une valeur élevée de W_2.

— les valeurs de W_3 correspondent, et ceci d'une façon plus rigoureuse, au rapport $\frac{L}{l}$. Reprenons en effet la relation :

$$W_3 = + 0{,}104\,550\; X_1 - 0{,}076\,991\; X_2 - 0{,}011\,990\; X_3 - 17{,}240\,704$$

dans celle-ci le multiplicateur de X_3 est faible par rapport à ceux de X_1 et de X_2. Donc pour les valeurs faibles de W_3 les feuilles ont une forme ronde et pour les valeurs élevées une forme allongée.

Le premier graphique (fig. 19) donne la projection des treize groupes. Ils sont tous significativement différents, sauf cependant :

le groupe III avec le groupe I
le groupe IV avec le groupe II
le groupe VIII avec le groupe IX

Le groupe III est celui des cognassiers de Palestine 1 qui, comme nous l'avons vu, ont les caractéristiques générales des cognassiers d'Angers et en particulier de ceux dont le fruit est pyriforme. Jusqu'à preuve du contraire, on peut penser que les cognassiers d'Angers sont des cognassiers de Palestine.

Le groupe IV est celui des cognassiers d'Italie. Leurs caractéristiques générales sont aussi celles des cognassiers d'Angers, on ne peut donc les confondre avec les cognassiers du groupe II : cognassiers de Provence. Mais ils se différencient des cognassiers d'Angers par des feuilles légèrement plus grandes et surtout un pétiole plus long.

Les groupes VIII et IX correspondent au F et au G d'East Malling. A notre avis, ces deux cognassiers n'ont pas de caractéristiques suffisamment différentes pour en faire deux groupes. Nous les avons cependant séparés pour tenir compte de la classification de HATTON.

Le type B d'East Malling se révèle significativement différent de tous les groupes. Nous l'avons toutefois conservé dans le groupe des cognassiers d'Angers.

Le graphique de la fig. 20 donne le détail de la répartition des clones de cognassiers d'Angers. Ils se divisent en deux sous-groupes et trois clones isolés. A l'intérieur de ces sous-groupes, les clones très proches les uns des autres ont été entourés d'un trait discontinu. Ces derniers sont très probablement des origines différentes d'un même clone. A l'intérieur des sous-groupes, les sous-divisions sont liées entre elles par un ou deux clones.

Le graphique de la figure 21 montre les différents sous-groupes de cognassiers de Palestine 1. Ils sont au nombre de sept. Le sous-groupe comprenant les clones C_{32} et $C_{155-1-9-4}$ a les mêmes caractéristiques foliaires que le sous-groupe des cognassiers d'Angers, comprenant les clones C_{12} L_3 et C_{148-1}. Tous ces clones ont des fruits pyriformes.

Le graphique de la figure 22 présente les différents sous-groupes de cognassiers d'Italie.

Le groupe des cognassiers de Provence étudiés comprenait cent cinquante-cinq souches provenant pour la plupart des prospections effectuées dans le sud de la

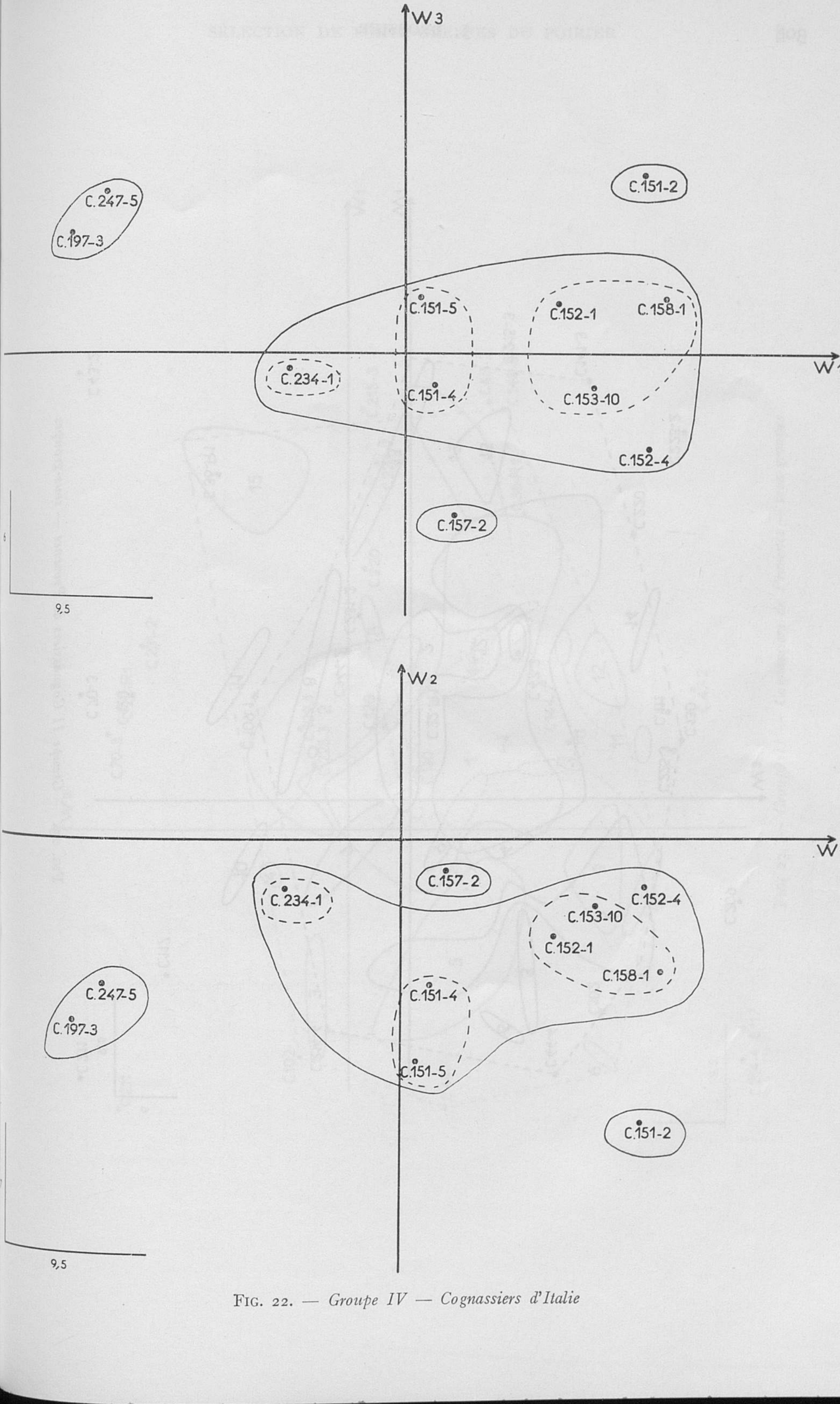


FIG. 22. — *Groupe IV — Cognassiers d'Italie*

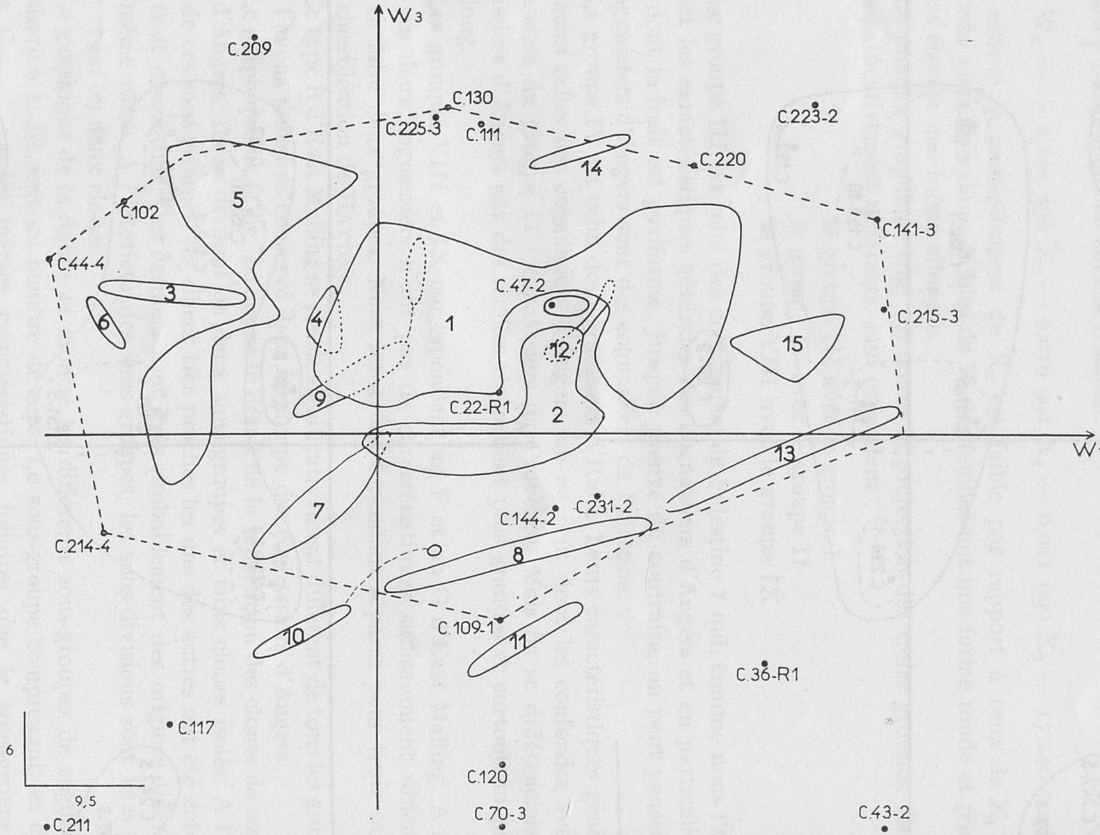


FIG. 23. — *Groupe II Cognassiers de Provence — sous-groupes*

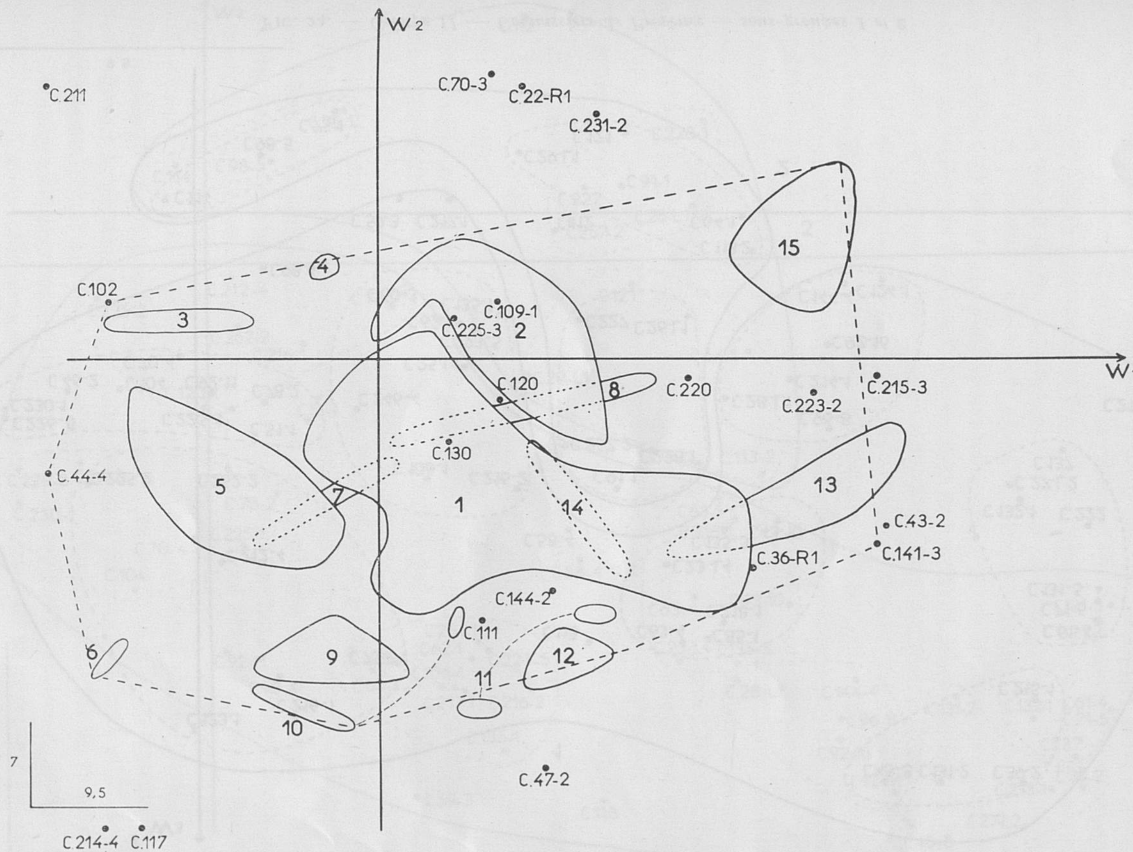


FIG. 23. — *Groupe II — Cognassiers de Provence — sous-groupes*

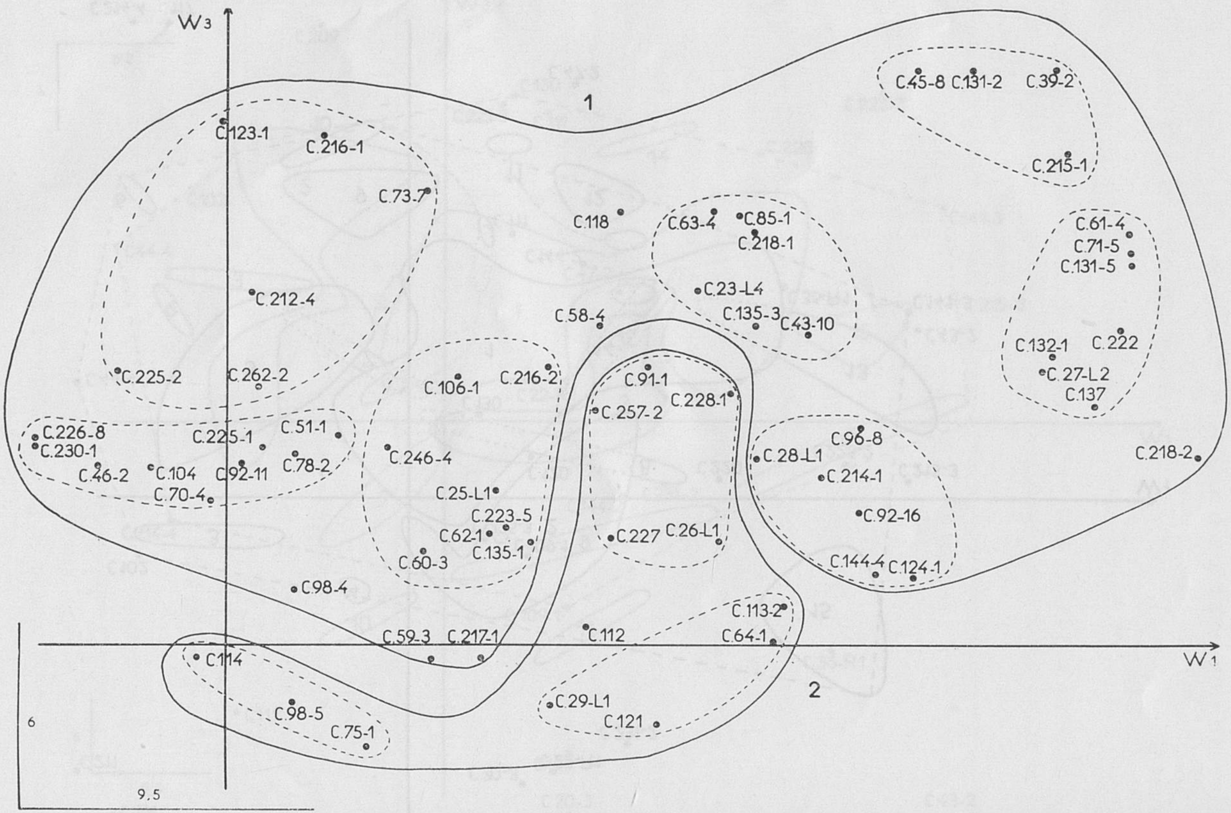


FIG. 24. — *Groupe II — Cognassiers de Provence — sous-groupes 1 et 2*

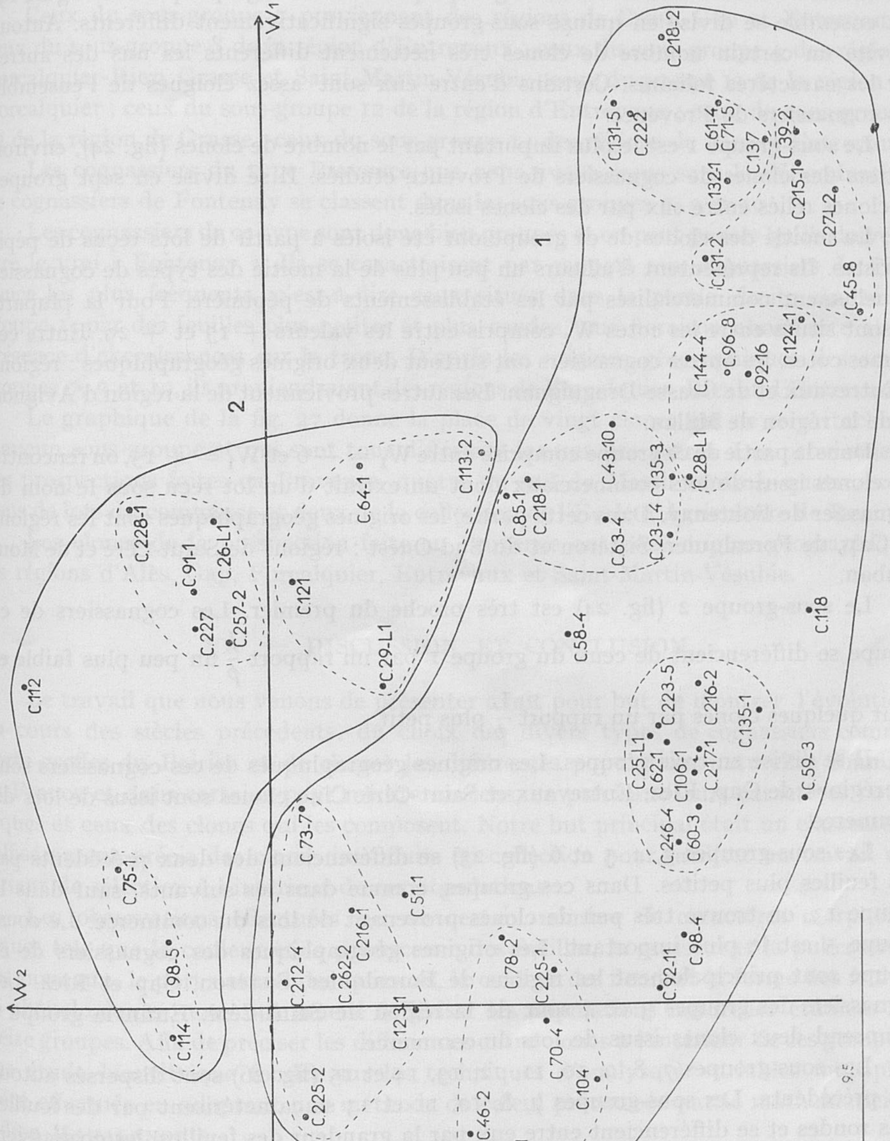


FIG. 24. — *Groupe II — Cognassiers de Provence — sous-groupes 1 et 2*

France et aussi des pépinières commerciales. Ceci explique un peu la complexité du graphique présenté sur la figure 23. Sur ce graphique, nous avons entouré d'un trait discontinu l'ensemble des clones de ce groupe présenté sur le graphique de la figure 19. Cet ensemble se divise en quinze sous-groupes significativement différents. Autour gravite un certain nombre de clones très nettement différents les uns des autres par les caractères foliaires. Certains d'entre eux sont assez éloignés de l'ensemble des cognassiers de Provence.

Le sous-groupe 1 est le plus important par le nombre de clones (fig. 24), environ le tiers des clones de cognassiers de Provence étudiés. Il se divise en sept groupes de clones reliés entre eux par des clones isolés.

La moitié des clones de ce groupe ont été isolés à partir de lots reçus de pépiniéristes. Ils représentent d'ailleurs un peu plus de la moitié des types de cognassier actuellement commercialisés par les établissements de pépinière. Pour la plupart, ils sont situés entre les cotes W_1 compris entre les valeurs $+ 15$ et $+ 29$. Entre ces mêmes cotes, les autres cognassiers ont surtout deux origines géographiques : régions d'Entrevaux et de Grasse-Draguignan. Les autres proviennent de la région d'Avignon et de la région de Millau.

Dans la partie de ce groupe comprise entre $W_1 = -6$ et $W_1 = +15$, on rencontre six clones issus de lots commerciaux dont un extrait d'un lot reçu sous le nom de cognassier de Fontenay. Dans cette partie, les origines géographiques sont les régions de Gap, de Forcalquier, Sisteron et du Sud-Ouest : régions de Saint-Céré et de Montauban.

Le sous-groupe 2 (fig. 24) est très proche du premier. Les cognassiers de ce groupe se différencient de ceux du groupe 1 par un rapport $\frac{l}{p}$ un peu plus faible et pour quelques clones par un rapport $\frac{L}{p}$ plus petit.

Il se divise en trois groupes. Les origines géographiques de ces cognassiers sont les régions de Gap, Riez, Entrevaux et Saint-Céré. Cinq clones sont issus de lots du commerce.

Les sous-groupes 3, 4, 5 et 6 (fig. 25) se différencient des deux précédents par des feuilles plus petites. Dans ces groupes, comme dans les suivants, sauf dans le groupe 13, on trouve très peu de clones provenant de lots du commerce. Le sous-groupe 5 est le plus important. Les origines géographiques des cognassiers de ce groupe sont principalement les régions de Forcalquier, Sisteron, Gap et Riez. Les cognassiers des groupes 3 et 4 sont de la région de Saint-Céré. Enfin le groupe 6 comprend deux clones issus de lots du commerce.

Les sous-groupes 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 et 15 (fig. 26) sont dispersés autour des précédents. Les sous-groupes 7, 8, 10, 11 et 13 se caractérisent par des feuilles plus rondes et se différencient entre eux par la grandeur des feuilles, les cognassiers des sous-groupes 7 et 10 ayant des feuilles plus petites que celles du groupe 13.

Le sous-groupe 14 se caractérise par des feuilles assez allongées.

Les sous-groupes 9 et 12 comprennent des cognassiers dont le rapport $\frac{l}{p}$ des feuilles est petit. Les sous-groupes 10 et 11 déjà cités rentrent également dans cette catégorie.

Le sous-groupe 15, enfin, se caractérise par de grandes feuilles dont le rapport

$\frac{l}{p}$ est élevé. Les cognassiers de ce dernier groupe proviennent tous de la région d'Aramon-Avignon.

Ceux du sous-groupe 7 proviennent des régions de Crest, Gap et Entrevaux ; ceux du sous-groupe 8 de la région d'Entrevaux ; ceux du sous-groupe 9 des régions Forcalquier-Riez, Grasse et Saint-Martin-Vésubie ; ceux du groupe 11 de la région de Forcalquier ; ceux du sous-groupe 12 de la région d'Entrevaux ; ceux du sous-groupe 13 de la région de Grasse ; ceux du sous-groupe 14 des régions de Riez et Entrevaux.

Les cognassiers du type Provence que nous avons reçus sous la dénomination de cognassiers de Fontenay se classent dans les sous-groupes 7, 9 et 10.

Les cognassiers de ce type sont donc bien groupés et on peut penser qu'ils doivent être le vrai « Fontenay ». Ils se caractérisent par rapport aux cognassiers de Provence les plus fréquents, c'est-à-dire ceux situés dans la partie droite du sous-groupe 1, par des feuilles plus petites et plus rondes, une floraison abondante et la présence d'excroissances sur le tronc. D'après les origines géographiques des sous-groupes 7, 9 et 10, ils proviendraient des régions de Forcalquier, Riez et d'Entrevaux.

Le graphique de la fig. 27 donne la place de vingt clones qui ne se rattachent à aucun sous-groupe et qui sont tous différents les uns des autres. Dix proviennent des prospections faites en Provence, quatre du sud du Massif central, quatre sont issus de lots du commerce et deux de la collection de l'École d'Agriculture de Rennes.

Les clones de la prospection faite en Provence ont pour origine géographique les régions d'Alès, Gap, Forcalquier, Entrevaux et Saint-Martin-Vésubie.

VI. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Le travail que nous venons de présenter avait pour but de montrer l'évolution au cours des siècles précédents, du choix des divers types de cognassiers comme porte-greffes du Poirier et de classer les différentes populations naturelles connues en France et dans certains pays méditerranéens, en précisant leurs caractères botaniques et ceux des clones qui les composent. Notre but principal était un classement suffisamment précis des clones introduits en collection pour faciliter un travail ultérieur de sélection à l'intérieur de ces populations.

Les observations effectuées sur un certain nombre de caractères morphologiques tels que la couleur et la pubescence des feuilles, la grosseur et la pubescence des rameaux, le port naturel des buissons, la couleur des fleurs et la forme des fruits, et phénologiques, nous ont amené à diviser les populations naturelles étudiées en treize groupes. Afin de préciser les différences entre clones à l'intérieur de ces groupes, une étude biométrique fondée sur les techniques d'analyse à variables multiples a été effectuée en adoptant une méthode de calcul préconisée par le mathématicien indien MAHALANOBIS.

Elle constitue sans aucun doute un moyen de grande valeur dans un travail de classification et sa précision est d'autant meilleure que le nombre de caractères étudiés est important. En effet, elle fait appel à autant de fonctions discriminantes qu'il y a de caractères en jeu. Dans le travail présenté ici, trois caractères seulement ont été mis en cause. Le classement aurait été plus précis si nous avions introduit les mensurations d'autres caractères, celles des fleurs et des fruits par exemple. Dans ce cas, les divisions finales n'auraient compris que des clones très proches.

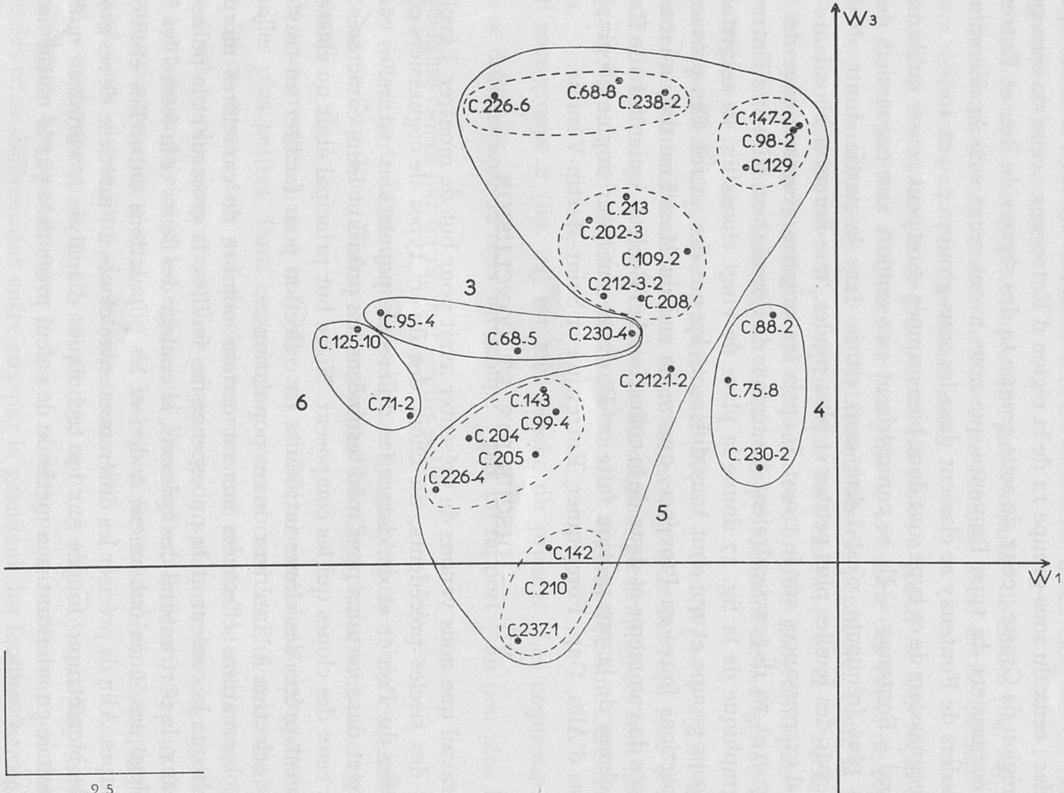


FIG. 25. — *Groupe II — Cognassiers de Provence — sous-groupes 3-4-5 et 6*

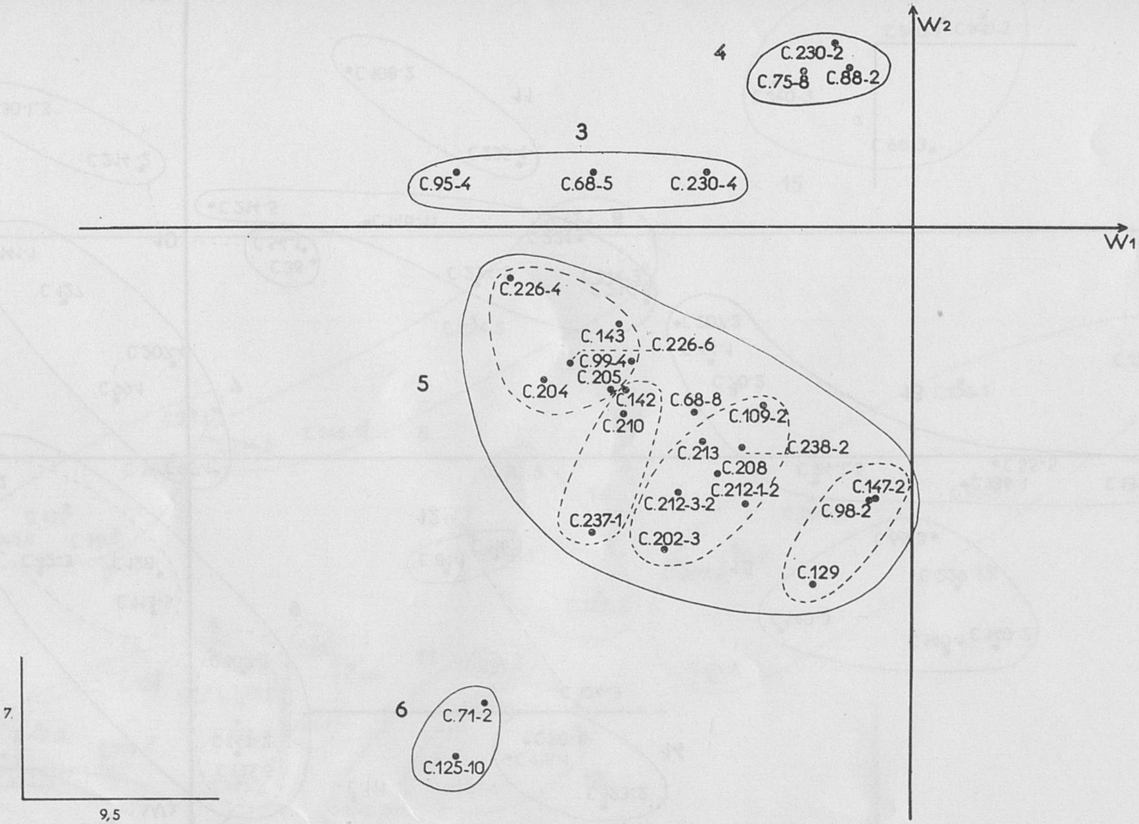


FIG. 25. — *Groupe II — Cognassiers de Provence, sous-groupes 3-4-5 et 6*

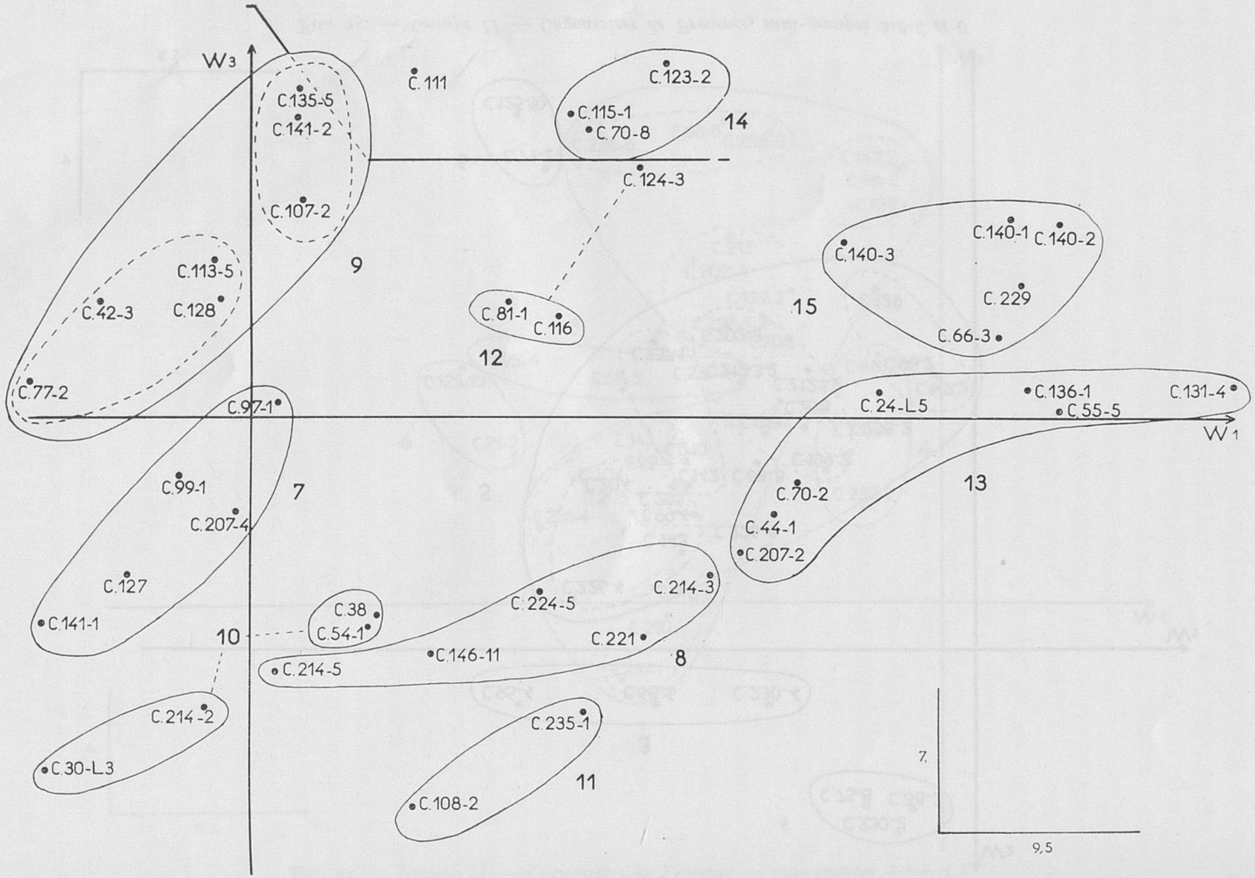


FIG. 26. — *Groupe II — Cognassiers de Provence, sous-groupes 7 à 15*

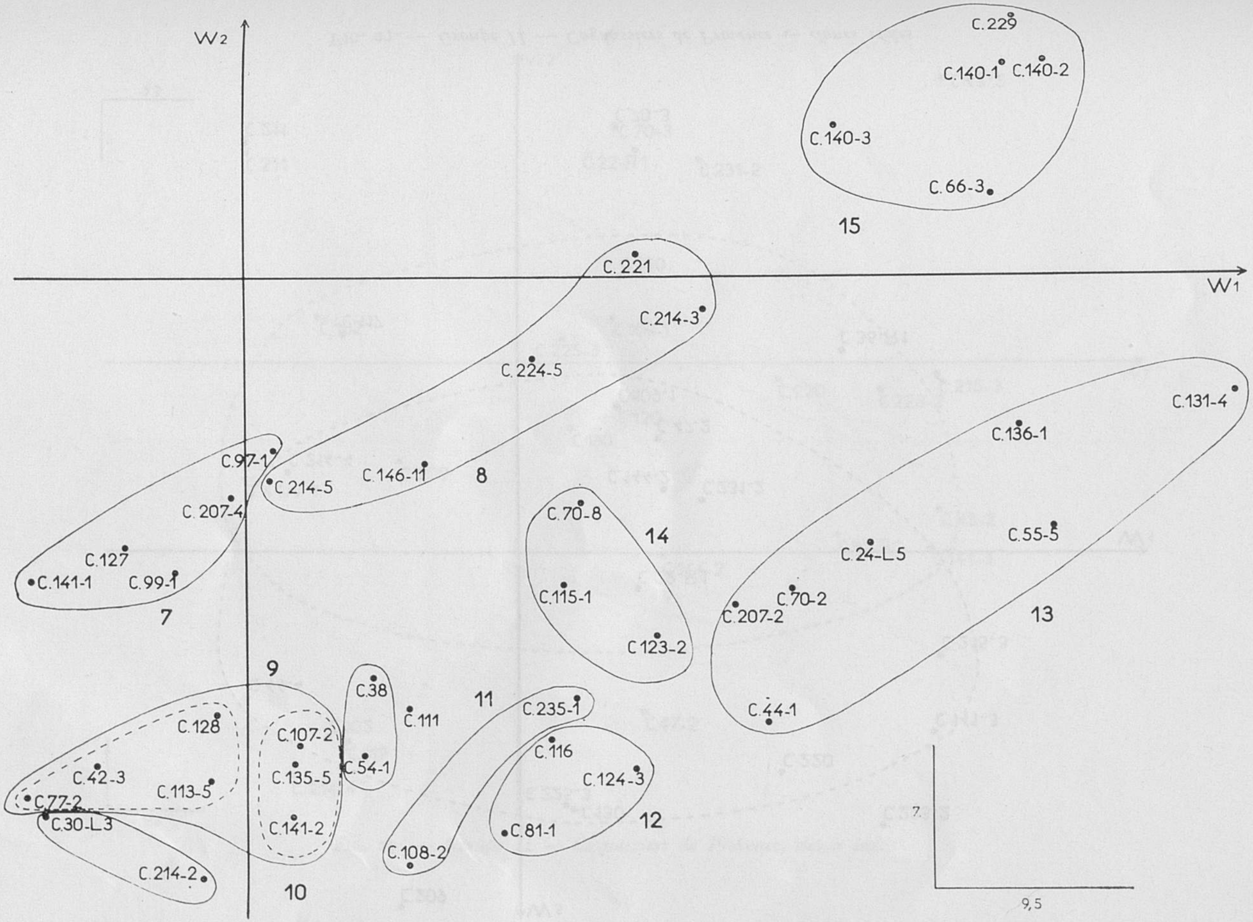


FIG. 26. — *Groupe II Cognassiers de Provence — sous-groupes 7 à 15*

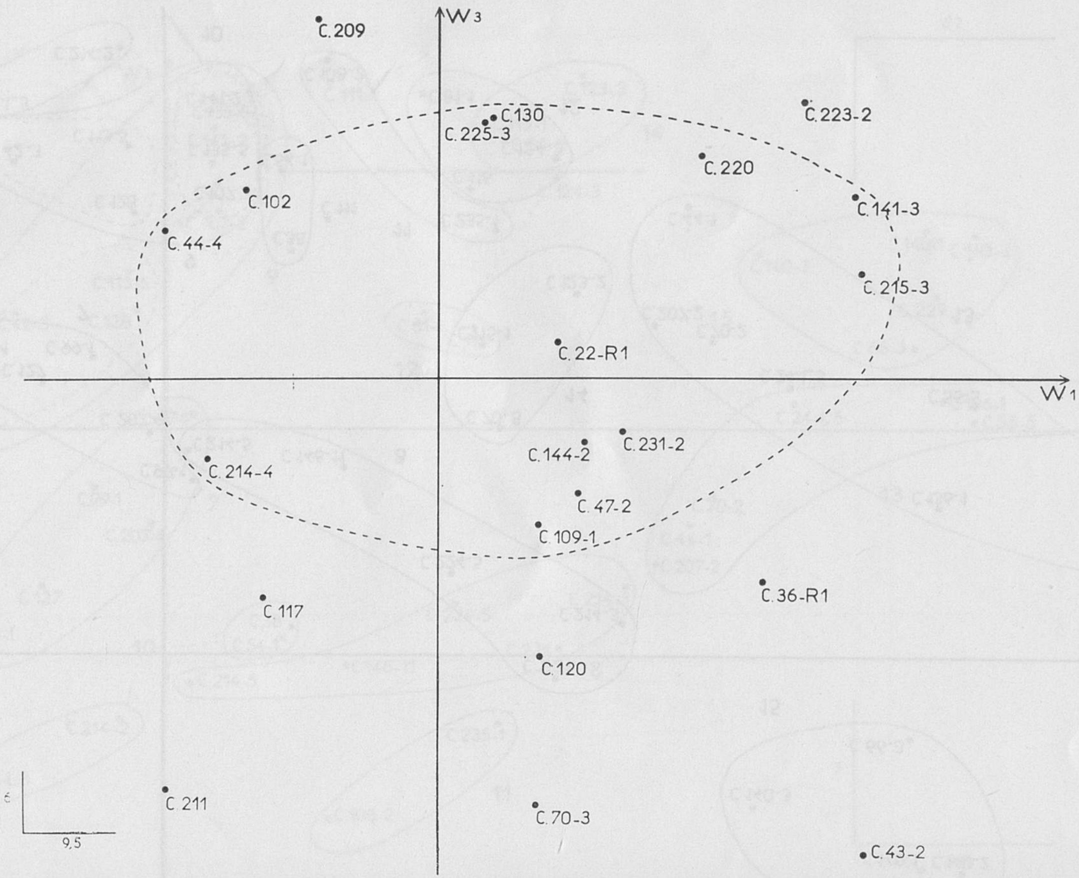


FIG. 27. — *Groupe II — Cognassiers de Provence — clones isolés*

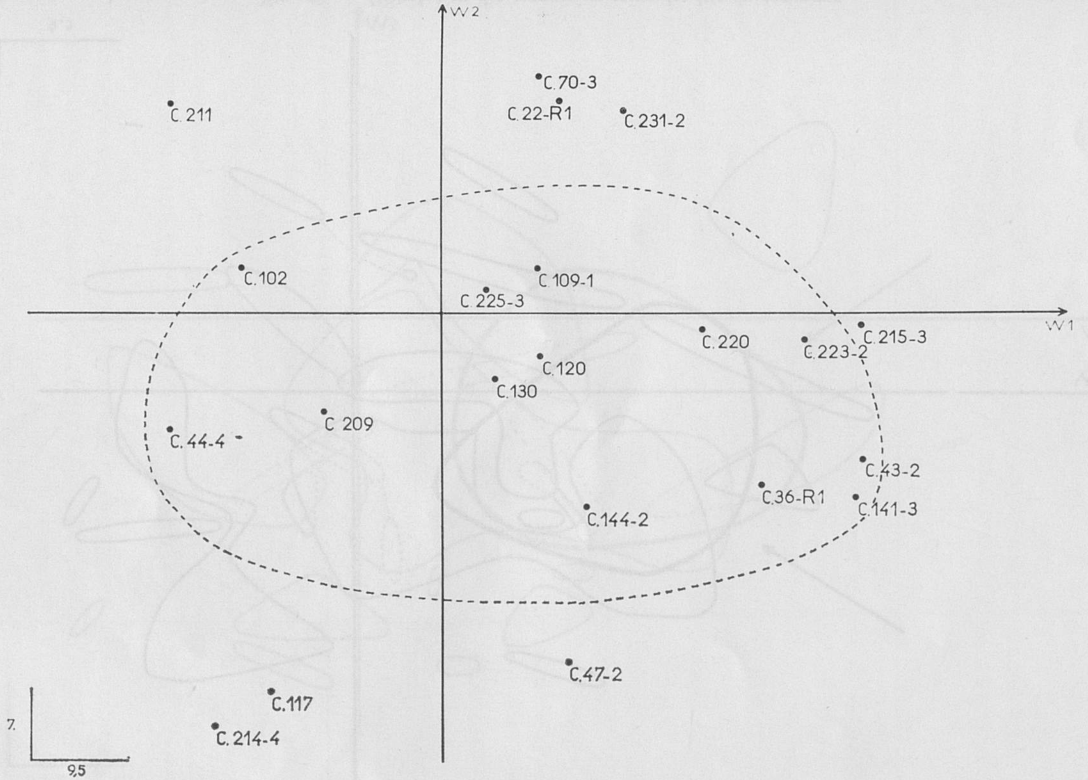


FIG. 27. — *Groupe II — Cognassiers de Provence, clones isolés*

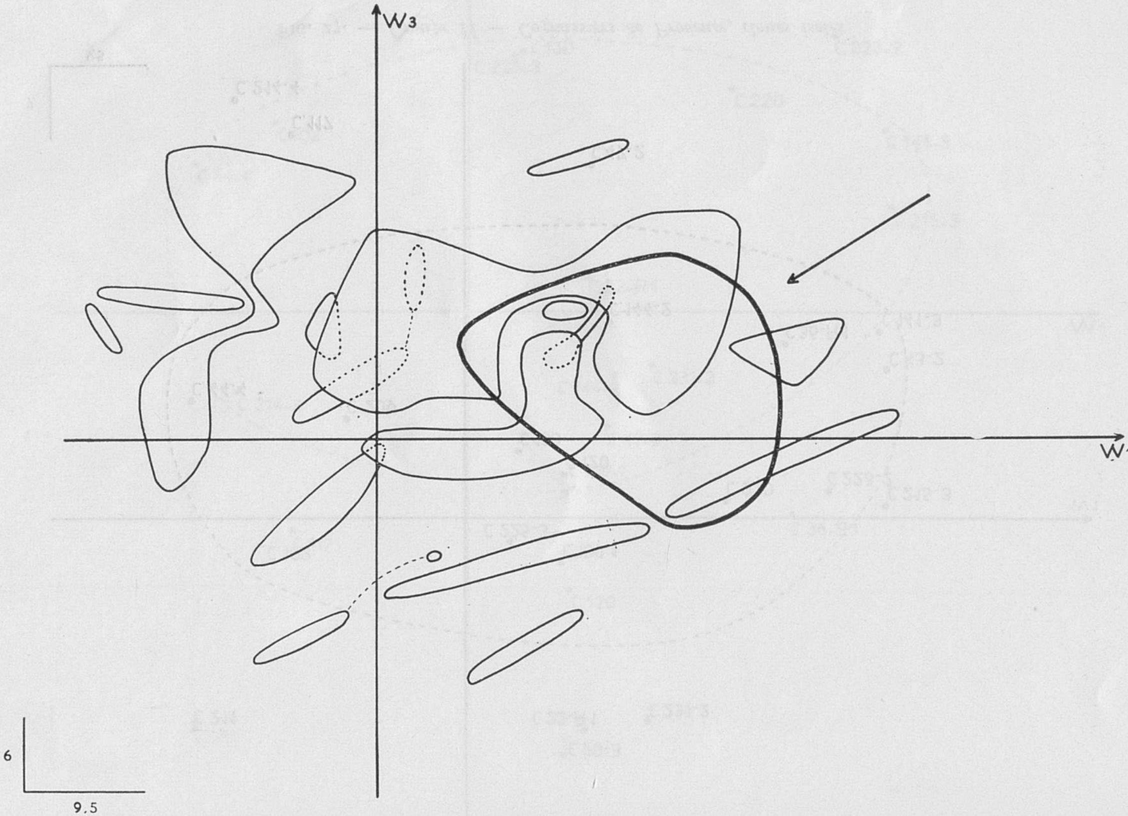


FIG. 28. — *Distribution des cognassiers issus des lots du commerce*

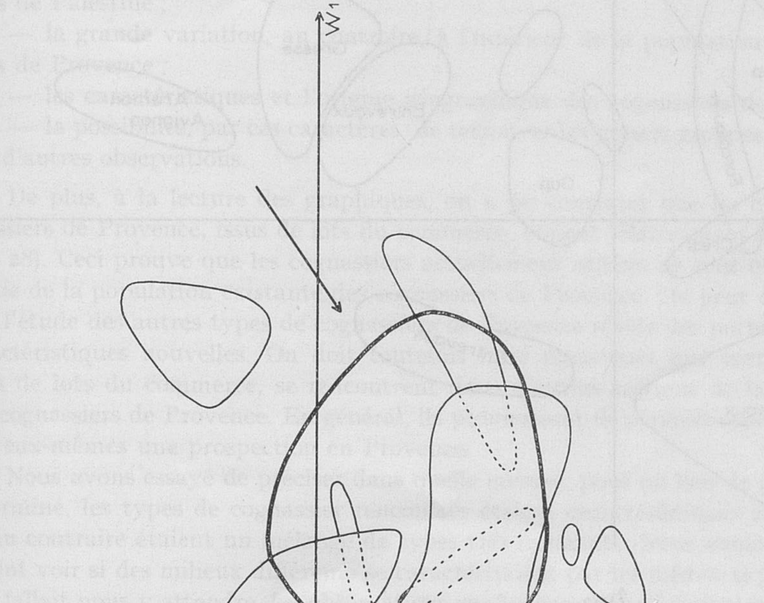


FIG. 28. — *Distribution des cognassiers issus des lots du commerce*

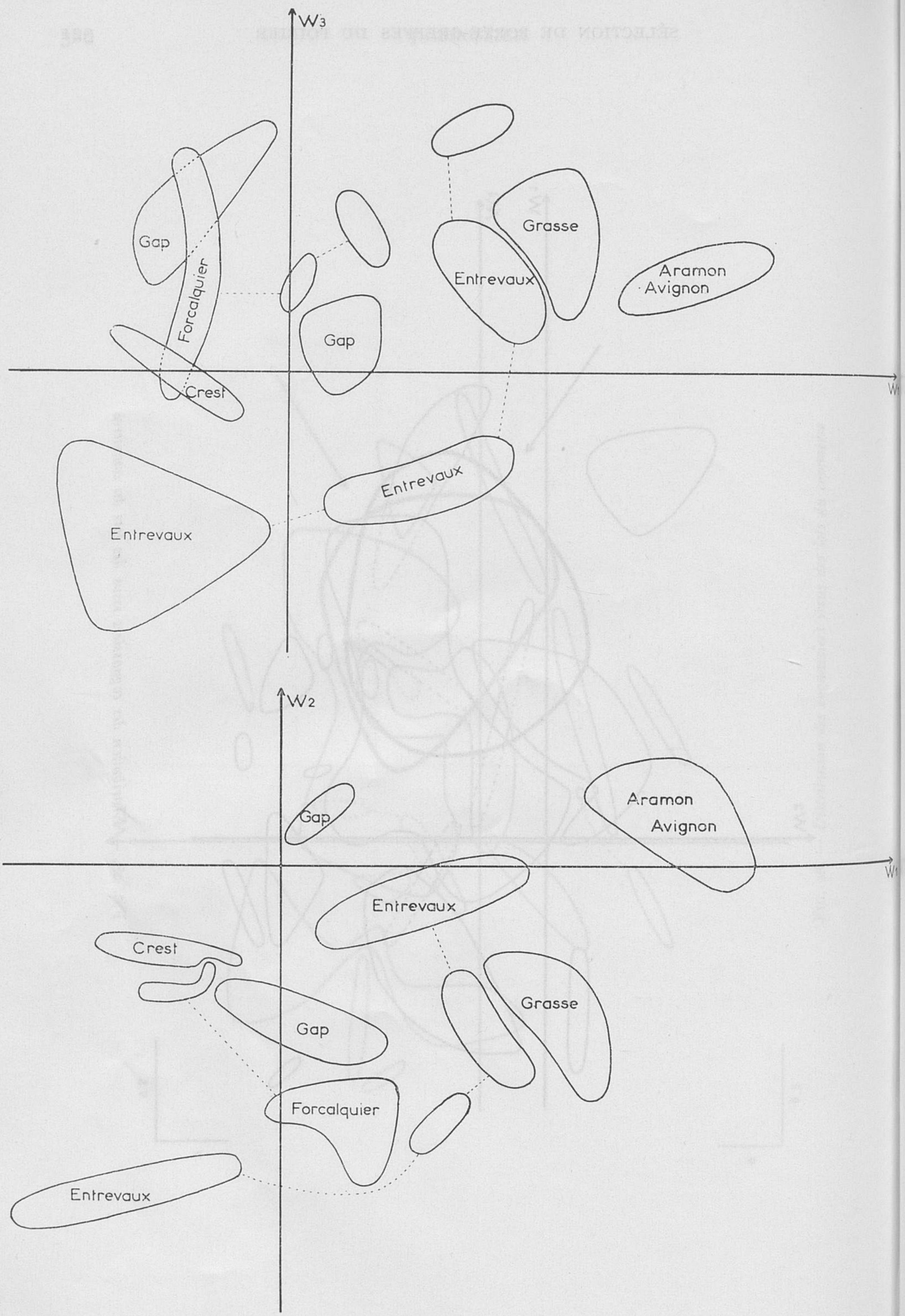


FIG. 29. — *Distribution des origines géographiques*

Toutefois, telle que nous l'avons utilisée, cette méthode nous a permis de montrer à l'aide des mensurations des caractères foliaires :

— la faible variation à l'intérieur de la population des cognassiers d'Angers ;

— les caractéristiques identiques des cognassiers d'Angers et de certains cognassiers de Palestine ;

— la grande variation, au contraire, à l'intérieur de la population des cognassiers de Provence ;

— les caractéristiques et l'origine géographique des cognassiers de Fontenay ;

— la possibilité, par ces caractères, de retrouver les grands groupes déjà établis par d'autres observations.

De plus, à la lecture des graphiques, on a pu constater que les clones de cognassiers de Provence, issus de lots du commerce, étaient relativement bien groupés (fig. 28). Ceci prouve que les cognassiers actuellement utilisés ne sont qu'une petite partie de la population existante des cognassiers de Provence. On peut donc espérer que l'étude des autres types de cognassiers de Provence révèle des porte-greffes aux caractéristiques nouvelles. On doit toutefois faire remarquer que certains clones, issus de lots du commerce, se rencontrent dans d'autres sections de la population des cognassiers de Provence. En général, ils proviennent de pépiniéristes isolés ayant fait eux-mêmes une prospection en Provence.

Nous avons essayé de préciser dans quelle mesure, pour un lieu de prélèvement déterminé, les types de cognassier rencontrés étaient caractéristiques de ce milieu, ou au contraire étaient un mélange de types très différents. Nous avons voulu également voir si des milieux différents se caractérisaient par les mêmes types. En fait, et il fallait nous y attendre, les observations sur les caractères foliaires seuls ne pouvaient permettre d'apporter des informations précises à ce sujet. Cependant nous avons constaté que (fig. 29) :

— les cognassiers provenant des régions d'Aramon, Avignon, de Grasse-Draguignan et de Crest sont très bien localisés sur les graphiques. Il faut faire remarquer, cependant, que si les cognassiers issus de ces régions sont pour la plupart bien groupés, certains ont des coordonnées très différentes.

— les cognassiers provenant des régions de Gap, Forcalquier, Sisteron, Riez et Entrevaux sont moins homogènes à l'intérieur de chaque origine. A proximité d'Entrevaux, à Pont-de-Gueydan exactement, sur les bords du Var, nous avons trouvé un ensemble de cognassiers très nettement différents les uns des autres. Certains ont été retrouvés dans la région, quant aux autres nous en ignorons l'origine ;

— les cognassiers des régions de Grasse et d'Avignon sont différents entre eux et très différents des cognassiers des régions de Gap, Sisteron, Forcalquier et de certains types de Pont-de-Gueydan.

— certains types de cognassiers se trouvent dans des régions différentes ;

— les types de cognassiers trouvés dans le Sud-Ouest et le sud du Massif central sont moins nombreux. Sur les graphiques ils sont disséminés un peu dans tous les sous-groupes de cognassiers de Provence. Sans aucun doute, le Sud-Ouest est une aire d'extension des types de Provence.

Quelle est l'origine de la variation constatée dans la population des cognassiers de Provence ? On doit constater tout d'abord que jamais au cours des prospections

que nous avons effectuées, nous n'avons rencontré de cognassiers appartenant aux autres groupes. Il est fort possible que dans les temps anciens, seuls les cognassiers de ce type aient été introduits. Ou si des cognassiers d'autres groupes ont été introduits, ceux-ci n'ont pas survécu soit à cause d'une mauvaise adaptation, soit à cause de la difficulté de les multiplier, soit enfin parce qu'ils donnaient peu de fruits ou des petits fruits.

D'un autre côté, nous avons vu que les cognassiers de Provence se divisaient en quinze types d'après les caractères foliaires. Chacun de ces types présente une variation plus ou moins grande suivant le cas. Nous avons constaté également que dans chaque lieu de prélèvement le mélange des types de différents sous-groupes n'était pas élevé. Enfin, les observations sur la biologie florale du cognassier ont montré que celui-ci pouvait être considéré comme cléistogame. On peut donc penser que les types représentant les différents sous-groupes ont été introduits ou sont apparus par mutation et que les cognassiers constituant chacun de ces sous-groupes sont issus de semis naturels, le degré de variation à l'intérieur de ces sous-groupes dépendant du degré d'hétérozygotie des cognassiers qu'ils renferment.

Nous avons vu que les populations étudiées se divisent en treize grands groupes très nettement différents, au moins pour la plupart d'entre eux. Quels sont les rapports qui unissent ces différentes populations ? A-t'on affaire à des écotypes ou à des écospecies ? Les différences sont petites entre les cognassiers d'Angers, certains cognassiers de Palestine et les cognassiers italiens. Peut-être aurait-il été préférable de les réunir en un seul groupe. Leurs différences ne sont en effet pas plus grandes qu'entre les sous-groupes des cognassiers de Provence.

Les rapports sont plus éloignés quand on compare les cognassiers d'Angers et ceux de Provence, et ils le sont encore beaucoup plus quand on rapproche les cognassiers de ces groupes avec ceux des groupes XI ou XII ou encore avec des cognassiers à fruits. Bien qu'il semble que le genre *Cydonia* ne comprenne qu'une seule espèce, c'est l'avis de tous les botanistes, il serait intéressant de préciser le degré de parenté de ces différents groupes par des études cytologiques, génétiques ou même sérologiques. Les études entreprises pour résoudre certains problèmes posés par la sélection des cognassiers comme porte-greffes du poirier (affinité au greffage, comportement en milieu chlorosant ou création par hybridation de cognassiers plus vigoureux) contribueront peut-être à apporter indirectement des informations sur cette question.

Reçu pour publication en avril 1965.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. Arnoux, Directeur du Service de Biométrie, pour les conseils qu'il nous a donnés dans l'établissement des D² de MAHALANOBIS ; Mme Rémy pour l'aide qu'elle nous a apportée en ce qui concerne la partie bibliographique et M. A. de Peretti pour les mensurations qu'il a effectuées.

SUMMARY

THE SELECTION OF PEAR-TREE STOCKS IN NATURAL POPULATIONS OF QUINCES-TREES.

THE STUDY OF NATURAL POPULATIONS OF QUINCES-TREES.

A classification has been done among three hundred clones coming from nurseries, prospections in the south of France and several mediterranean countries. These clones have been planted and observed in the same place, in the Fruit breeding station of Angers.

Thirteen groups have been separated with the following characters :

leaf color, pubescence of leaves and twigs, habit of growth, shape and size of fruits, earliness of bud. bursting and blooming.

These groups have been separated in sub-groups using a statistical method of multivariate analysis established by MAHALANOBIS and described by RAO (1952) as « the concept of distance and the problem of group constellations ».

The results can be summarized as follow :

— a narrow variation has been found among the population of Angers quinces,

— some quinces coming from Israel are similar to Angers quinces,

— the Variation among population of Provence quinces is very large,

— Fontenay' quinces belong to Provence' quinces,

— Provence quinces which are now propagated by nurserymen represent just a small part of the Provence population,

— at last we determine the natural spreading of quinces in France and some relation between geographical origins and clone's characteristics.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BALTET Ch., 1880. *L'Art de greffer. G.* Masson, Paris.

BONNEFONS (Nicolas de), 1684. *Le jardinier français qui enseigne à cultiver les arbres et herbes potagères.* Nicolas le Gras, Paris.

BRETONNERIE (M. de la), 1784. *L'école du jardin fruitier qui comprend l'origine des arbres fruitiers.* E. Onfroy, Paris.

DECAISNE J. oo NAUDIN Ch., 1800., *Manuel de l'amateur des jardins.* Tome IV.

DIPPEL L., 1893. *Handbuch der Laubholzkunde* **3.**, 357.

DUHAMEL DU MONCEAU, 1809. *Traite des Arbres et des Arbustes.*

CRESCENS (Pierre de), 1300. *Des prouffitz champètres et ruraux,* Paris. Jean Bon Home, 1486.

ESTIENNE Ch., 1586. *L'Agriculture et Maison rustique.* Pouriaques du Onyx, Paris.

EVREINOFF V. A., 1936. Observations biologiques sur les genres *Cydonia* MILL, *Chaenomeles* LINDL et *Docynia.* DECNE. *Rev. Gen. Bota.,* **48,** 711-722.

FISHER R. A., 1936. The use of multiple measurements in Taxonomic problems *An. Eugenics,* **7,** 179-88.

HATTON R. J., 1920. A first report on quince stocks for pears. *J. Roy. hort. Soc.,* **45,** 269-277.

KENDALL M. G., 1951. *The advanced theory of statistics* vol. **11** 328-362 Charles Griffin-Londres.

KOMAROFF, 1931. *L'origine des Plantes cultivées.* Leningrad.

LAURENT J., 1675. *Abrégé pour les arbres nains et autres.* Charles de Sercy, Paris.

LE BERRYAIS, 1775. *Traité des jardins ou le Nouveau de la Quintinye.* Didot, 1775. Tome I, jardin fruitier, Paris.

LE GENDRE (Abbé), 1652. *La manière de cultiver les arbres fruitiers.*

LELIEUR, 1842. *La Pomone française ou traité des arbres fruitiers.* Paris, H. Cousin.

LIGER L., 1743. *Culture parfaite des jardins fruitiers et potagers avec des dissertations sur la taille des arbres.* Joseph Sangrain, Paris.

MAHALANOBIS P. C., 19fi6. On the generalized distance in Statistics. *Proc. Nat. Inst. Sci (India)* **12,** 49.

MAURER E., 1939. *Die unterlagen der Obstgeholze.* Paul Parey, Berlin.

MEDVEDEFF N. A., 1925. *Les arbres et arbustes du Caucase.* Tiflis.

MERLET J., 1667 et 1690. *L'abrégé des bons fruits avec la manière de les connaître et de cultiver les arbres.* Charles de Sercy, Paris.

MILLER P., 1768. *Gardeners' Dictionnary,* ed., 8.

MIZAULD A., 1574. *Hortorum secreta, cultus et auxillia, amoenae voluptatis...* « Lutetiæ apud Federicum Morellum. Regium Typographum, MDLXXIV », traduit en français par Jean Lertout, 1578.

NOISETTE L., 1821. *Le jardin fruitier.* Paris, Audot (2e édition).

NOMBLOT A., 1934. *Traité d'arboriculture fruitière et de pomologie.* S. N. H. F., Paris.

PAMART E., 1927. *Arboriculture fruitière raisonnée et mise à la portée de tous, précédée de notions de botanique.* Doin, Paris.

PORTA (G. della), 1658. *Natural Magic.* III : XI, 81-82, Londres.

RAO C. R., 1952. *Advanced Statistical Methods in Biometric Research,* 351-378. John Wiley and sons New York. Chapman and Hall, London.

REHDER A., 1956. *Manual of cultivated trees and shrubs,* 400-401. The Mac Millan Company, New York.

ROZIER (Abbé), 1783. *Cours complet d'Agriculture théorique, pratique, économique et de médecine rurale et vétérinaire.* Tome III, Paris.

SAINT-GERMAIN (J. J. de), 1786. *Suite du manuel des végétaux ou les Présens de Pomone et description de la plus belle production du règne végétal.* Delaguette, Paris.

SCHAVROFF N. N., 1914. *Le monde végétal du littoral de la mer Caspienne,* Tiflis.

SCHINDLER O., 1932. *Obstunterlagen.* Sond erheft der Zeitschrift der obst. und gemusebau. Reichsverband des deutschen Gartenbaues ov. Berlin.

SCHNEIDER C. K., 1906. *Illustriertes Handbuch der Landbholzkunde.* Iena.

TYDEMAN H. M., 1948. Description of some quince rootstocks. *Rep. E Malling Res. Sta.,* 1947, 59-64.

VAUTIER, 1676. *Instructions pour les arbres fruitiers.* Charles de Sercy, Paris.

VAVILOFF N. I., 1929. *The role of Central Asia in the origine of cultivated Plants.* Leningrad.

VORONOFF G. N., 1926. *Les poiriers sauvages du Caucase.* Leningrad.

ZHUKOVSKI P. A., 1930. *Les plantes cultivées de l'Asie Mineure.* Leningrad.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (3), 327-332.

NOTE PRÉLIMINAIRE

LE MANQUE DE FERTILITÉ CHEZ LE TRÈFLE VIOLET AUTOTÉTRAPLOÏDE

J. PICARD et J. BERTHAUT

avec la collaboration technique de Mme NICOLE BERTHAUT et R. PELLETIER

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques du Centre-Est, Dijon (Côte-d'Or)

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

A la suite des résultats obtenus dans les pays scandinaves, en Suède notamment, l'intérêt agronomique de l'autotétraploïdie ne semble plus discutable chez le trèfle violet. Cependant, bien que le travail effectué ait permis de mettre sur le marché des variétés supérieures aux diploïdes existantes, ces variétés n'ont pas encore d'extension notable. Un obstacle reste à franchir : la faible aptitude des trèfles violet autotétraploïdes à produire des semences.

Ce problème a été souvent abordé sous divers aspects, mais il demeure toujours aussi important.

L'obtention du maximum possible de rendement en semences nécessite en effet :

— un nombre aussi grand que possible de fleurs par unité de surface ;

— la présence d'un maximum possible de gamètes viables (surtout femelles) et équilibrés ;

— une pollinisation efficace des fleurs présentes ;

— le développement normal des embryons formés.

L'analyse de ces différents points et l'étude des causes de leur effet limitant ont fait l'objet d'un certain nombre de travaux. Nous rappelerons ici les conclusions de quelques uns de ceux-ci portant sur des espèces du genre *Trifolium.*

JULEN (1956) signale la présence de 381 inflorescences par m² chez un tétraploïde contre 554 chez un diploïde. Ceci représente un certain handicap au départ et pourrait justifier la mise au point de techniques spécialement adaptées aux tétraploïdes.

POVILAITIS et BOYES (1956) estiment que les anomalies de méiose n'expliquent pas la totalité du pourcentage de pollen avorté rencontré chez le trèfle violet tétraploïde. Ils supposent que des facteurs génétiques interviennent pour rendre compte du déficit de formation de gamètes viables (notamment gamètes femelles).

En 1956 également, ARMSTRONG et ROBERTSON concluent leur étude sur le trèfle hybride en disant qu'ils n'ont pas trouvé d'explication vraiment satisfaisante à la diminution de fertilité des tétraploïdes ni aux changements qui se produisent dans cette fertilité au cours des générations. Ils reprennent à leur compte la conclusion d'une étude sur maïs (FISCHER 1941) attribuant une large part des causes de la stérilité à des facteurs génétiques.

BINGEFORS et ESKILSSON (1962) ont analysé les conditions de pollinisation en Suède et concluent à l'importance de ce facteur. Ils estiment qu'une sélection pour une plus grande facilité de pollinisation par les abeilles serait efficace.

Miss A. M. EVANS (1959) comme d'ailleurs PANDEY (1955) considère l'avortement des embryons en cours de développement comme une cause importante de la faible fertilité du trèfle violet tétraploïde. Cet avortement serait dû à une mauvaise nutrition.

Le travail qui est rapporté ici entre dans le cadre de la comparaison de diploïdes et de tétraploïdes directement correspondants, (comparaison de plantes issues du même stock génique et ne différant que par le degré de ploïdie). Il se limite actuellement à l'aspect global de la fertilité enregistrée dans les conditions naturelles.

I. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

Le matériel végétal utilisé pour le doublement appartient à deux catégories. L'un est le résultat d'un travail d'amélioration pour la fertilité, l'autre n'a subi aucune sélection dans ce sens. Le travail de sélection a été effectué par M. VAN BOGAERT, *Rijkstation voor Planteveredeling, Melle*, Belgique, qui a bien voulu nous fournir des semences, ce dont nous le remercions vivement.

Le doublement a été effectué par immersion de jeunes plantules dans une solution de colchicine (BERTHAUT, à paraître). Les plantules ont été repiquées en serre puis en pépinière, au champ.

Le degré de ploïdie a été contrôlé sur les rameaux principaux de chaque plante ayant subi le traitement à la colchicine (plantes Co) par la technique de FUNKE (1956) lors de la floraison du premier capitule.

Utilisant deux plantes mixoploïdes voisines, on a réalisé, en prenant les précautions d'usage (capitules enfermés sous cellophane avant floraison, etc.) des croisements entre les parties diploïdes d'une part et les parties tétraploïdes d'autre part, obtenant ainsi des semences statistiquement identiques en ce qui concerne leur potentiel génétique au degré de ploïdie près.

Le niveau de ploïdie des plantules issues de ces croisements a été contrôlé par dénombrement chromosomique sur pointes de racines.

La quantité de semences C_1 fournie par les croisements manuels entre plantes Co était en général trop faible pour permettre la comparaison que nous désirions. La multiplication par voie sexuée de chacune des descendances C_1 en conditions d'isolement contrôlé (cages à pollinisation en présence d'insectes, abeilles ou bourdons suivant le cas) a fourni la génération C_2 sur laquelle a porté notre essai.

En ce qui concerne cette multiplication par voie sexuée, diploïdes et tétraploïdes ont été conduits de façon identique. De même, une numérotation semblable et un même mode d'obtention ont conduit aux autres familles C_2 mentionnées dans cette note.

Les deux groupes de descendances ont été semés en serre et repiqués par plantes individuelles dans deux pépinières, la pépinière de tétraploïdes étant isolée de tout trèfle diploïde d'une distance d'au moins 500 mètres.

La pépinière de plantes tétraploïdes comportait en outre des variétés commerciales témoin, des descendances de sélections effectuées dans certaines de ces variétés et du matériel issu de doublement mais n'entrant pas dans la comparaison ci-dessus.

A partir du début de la floraison on a, chaque semaine, individualisé sur chaque plante, par un système de marquage, 3 à 5 inflorescences ayant atteint un même stade de floraison. Afin de pouvoir limiter l'influence des conditions extérieures (température, pluie, fréquence de vol des insectes....) on a retenu des inflorescences sur chaque plante au cours de trois à quatre semaines consécutives.

II. — RÉSULTATS

1. *Valeur de la méthode de contrôle de la fertilité*

Le marquage d'inflorescences à intervalles réguliers, exécuté pour limiter les risques d'erreur de jugement dues à une variation des conditions de pollinisation (nature et fréquence de vol des insectes) ou à d'autres causes (influence du stade de floraison des plantes par exemple) fournit l'occasion de juger la fidélité de mesures qu'on peut effectuer à des dates différentes.

Le tableau 1 fournit les valeurs prises par le coefficient de corrélation entre les valeurs du pourcentage de fertilité enregistrées sur une même plante au cours des semaines.

TABLEAU 1

	Valeurs du coefficient de corrélation									
	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,00
Nombre d'observations	0	1	1	6	9	3	12	14	20	11

Tous les coefficients calculés sont positifs et 75 p. 100 ont une valeur comprise entre 0,60 et 1,00. On peut donc affirmer qu'une large part de la variation enregistrée dans nos séries de mesures est imputable aux différences de fertilité entre les plantes. La valeur d'une observation est satisfaisante et devrait nous permettre de simplifier le travail en limitant le nombre de répétitions effectuées dans le temps sur une même plante.

2. *Variations de la fertilité en fonction de l'année*

Deux types de matériel ont donné lieu à des observations au cours de deux ou parfois trois années : d'une part des familles C_2 et d'autre part des variétés commerciales.

TABLEAU 2

	1962		1963		1964	
	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations
F (1 × 3) = C_2			34,2	195	30,7	216
F (3 × 4) = C_2	32,7	309	45,2	108	22,5	159
G (9 × 12) = C_2	42,4	125			26,4	250
1363 = variété	53,8	93			40,4	144
1416 = variété	48,8	365	50,6	141	40,6	272
1437 = variété	54,2	218			46,1	232

Les résultats du tableau 2 soulignent l'importance de l'effet-année. Les valeurs observées en 1964 sont inférieures de 8 à 16 p. 100 à celles de 1962. L'écart est encore plus grand, dans un cas, entre 1963 et 1964. L'importance de l'effet-année semble varier avec les différentes familles ou variétés.

3. *Effet de la sélection dans une variété*

Les résultats enregistrés en 1962 ont été utilisés pour effectuer, chez trois variétés, une sélection pour la fertilité. Dans chaque variété, on a retenu un nombre de plantes correspondant à 10 p. 100 de l'effectif étudié, choisies pour leur fertilité élevée. Éclatées et placées en isolement, ces plantes ont fourni en 1963 des semences dont les descendants ont été plantés en 1964. Le tableau 3 permet la comparaison entre les pourcentages de fertilité enregistrés en 1964 sur les variétés d'origine d'une part et sur la génération issue d'une sélection dans ces variétés. L'effet de cette sélection est pratiquement nul.

TABLEAU 3

	Population d'origine		Population issue de sélection	
	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations
1363	40,4 ± 1,13	144	41,5 ± 0,99	145
1416	40,6 ± 0,65	272	40,6 ± 0,79	219
1437	46,1 ± 0,77	232	41,1 ± 0,69	230

4. *Fertilité des diploïdes et des tétraploïdes correspondants*

Le matériel observé pour la première fois en 1964 se composait de deux groupes comportant chacun 4 couples diploïdes-tétraploïdes correspondants. Les résultats enregistrés figurent au tableau 4 qui indique, pour chaque couple, la valeur moyenne

TABLEAU 4

Couple	Tétraploïdes		Diploïdes	
	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations	Graines pour 100 fleurs	Nombre d'observations
II	14,5 ± 1,92	175	90,2 ± 1,24	247
III	28,0 ± 1,51	89	91,4 ± 1,39	199
IV	28,5 ± 0,97	140	101,4 ± 1,15	218
V	16,0 ± 1,55	38	85,9 ± 1,56	227
VI	15,0 ± 0,63	160	60,5 ± 1,78	128
VII	12,2 ± 1,17	37	56,5 ± 2,15	84
VIII	5,3 ± 0,28	178	56,8 ± 2,43	107
IX	15,3 ± 0,69	229	56,5 ± 2,97	78

du rapport nombre de graines-nombre de fleurs multiplié par 100 avec son écart type et le nombre des observations qui ont servi à établir cette moyenne.

Les familles diploïdes forment deux ensembles assez homogènes et nettement distincts ; d'une part, le matériel brut dont la fertilité se situe entre 55 et 60 (valeur moyenne 57,9) et d'autre part le matériel ayant subi une sélection dont la fertilité varie entre 85 et 102 (valeur moyenne 93,2) avec des extrêmes individuels dépassant 140.

La distinction est un peu moins nette pour les tétraploïdes correspondants. Cependant, les familles III et VI correspondant à des diploïdes fertiles, sont nettement plus fertiles que les six autres et la famille VIII, correspondant à un des diploïdes peu fertiles est nettement moins fertile que les sept autres. Les valeurs moyennes sont pour le premier groupe : 21,8 et pour le second : 12,2 ; la différence entre ces moyennes est hautement significative.

III. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Les trois premiers résultats n'apportent pas beaucoup d'éléments nouveaux.

Nous retiendrons du premier, la possibilité de simplifier quelque peu le travail sans trop diminuer la valeur des résultats.

Du second, il faut retenir, semble-t-il, l'intérêt qu'il y a de maintenir à travers le temps une série de témoins susceptibles de traduire en chiffres l'influence des conditions de l'année. L'un des facteurs principaux de variation est sans doute la composition de la faune pollinisatrice. Il y aurait intérêt à avoir une gamme de témoins assez diversifiés quant à la dimension des fleurs qui conditionne la visite par telle ou telle espèce pollinisatrice.

Quant au troisième, il confirme qu'une pression de sélection, même assez forte, ne peut s'accompagner rapidement de résultats tangibles chez un autotétraploïde.

Le quatrième, par contre, nous semble présenter un grand intérêt par les perspectives qu'il peut ouvrir pour améliorer la fertilité des tétraploïdes.

Reprenant les conclusions de Povilaitis et Boyes dans leurs deux études de 1959 et 1960, on peut penser que la différence fondamentale entre nos deux groupes de matériel diploïde de départ réside dans l'aptitude qu'ont les fleurs des deux types de plantes à former zéro, un ou deux sacs embryonnaires viables, aptitude dont ils ont montré qu'elle était héréditaire.

Dans l'étude préliminaire rapportée ici, les facteurs qui peuvent intervenir pour déterminer la fertilité des tétraploïdes n'ont pas été analysés séparément. On ne peut donc déterminer la part qui revient à chacun d'eux : anomalies de méïose, formation de sacs embryonnaires non viables, difficultés de pollinisation, irrégularités de développement de l'embryon.

On peut par contre affirmer, que sauf en ce qui concerne le second de ces facteurs, l'échantillonnage de notre matériel a été effectué au hasard puisque nous ignorions tout des caractéristiques que le matériel diploïde pouvait transmettre aux tétraploïdes qui en seraient issus.

La différence significative des moyennes de fertilité entre les deux groupes,

comme la signification du coefficient de corrélation de rang entre diploïdes et tétraploïdes correspondants, calculée par la formule de SPEARMAN ($\rho = 0,73$) permettent d'affirmer que les facteurs héréditaires présents chez les diploïdes, donc essentiellement l'aptitude à former des ovules viables, jouent un rôle certain dans la fertilité des tétraploïdes.

Les différences observées à l'intérieur de chacun des deux groupes tétraploïdes (amplitude allant de 1 à 2 ou de 1 à 3), alors que les groupes diploïdes correspondants sont beaucoup plus homogènes (amplitude maximum 1 à 1,5) pourraient alors être dues à l'une ou l'autre des causes non contrôlées dans notre expérience.

Le parallélisme de correspondance qu'on constate entre diploïdes et tétraploïdes permet également de conclure que le doublement ne s'accompagne pas nécessairement d'un bouleversement considérable dans l'expression des relations entre allèles ou entre loci, modification qui rendrait inopérant un travail de sélection réalisé avant le doublement.

L'intervention de facteurs dont nous ignorons actuellement s'ils sont déterminés héréditairement peut, dans certains cas, limiter l'incidence pratique de la sélection effectuée avant le doublement. Il importe de préciser leur portée et leur mode d'action.

Ces résultats demandent à être élargis et confirmés dans le temps. Il n'en semble pas moins certain qu'une sélection du matériel diploïde, plus rapide et plus efficace qu'une sélection effectuée après doublement, offre des perspectives intéressantes pour améliorer la fertilité des trèfles violet tétraploïdes.

Reçu pour publication en mars 1965.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARMSTRONG J. M., ROBERTSON R. W., 1956. Studies of colchichine induced tetraploids of *Trifolium hybridum* L. I. Cross and self fertility and cytological observations. *Canad. J. agric. Sci.* **36**, 255-266.

BINGEFORS S., ESKILSSON C., 1962. Pollination problems in tetraploid red clover in central Sweden. *Z. Pflanzucht.* **48**, 205-214.

EVANS A. M., 1960. Seed setting in tetraploid red clover. *Welsh Plant Breeding Station Report* 1959. 31.

FISCHER H. E., 1941. Causes of sterility in autotetraploid maize (Abstr.). *Genetics* **26**, 151.

FUNKE C., 1956. Eine schnell methode zur selektion polyploider Pflanzen. *Naturwissenschaften*, **43**, 66.

JULEN G., 1956. Practical aspect on tetraploid clover. *Proc. 7th Intern. Grassland Congr. New Zealand*, 471-478.

POVILAITIS B., BOYES J. W., 1956. A cytological study of autotetraploid red clover. *Amer. J. Bot.* **43**, 169-174.

POVILAITIS B., BOYES J. W., 1959. Embryo-sac production in relation to seed yields of diploid Dollard red clover. *Canad. J. Plant Sci.* **39**, 364-374.

POVILAITIS B., BOYES J. W., 1960. Ovule development in diploid red clover. *Canad. J. Bot.* **38**, 507-532.

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; — *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *sommaire :* résumé suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction,* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *résumé* destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très *complet* placé en tête de l'article. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de : et *al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) ; le titre du périodique en abrégé selon la World List of Scientific Periodicals, ou le Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit.

Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confié au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5. *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 16 × 12,5 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylogrophiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront deux épreuves à corriger. Les corrections « d'auteur » ne sont autorisées que sur le premier jeu d'épreuves.

Envoi du manuscrit : M. MAYER, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise) France. On demande deux exemplaires.

Le Directeur-Gérant : M. L. Cagnac

Imprimerie Bussière à Saint-Amand (Cher), France. — 20-11-1965.

Dépôt légal : 4e trimestre 1965. — N° d'impression : 117

ANNALES
DE
L'AMÉLIORATION DES PLANTES

VOLUME 15 1965 NUMÉRO 4

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle - PARIS-7e

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs et de l'Institut national de la Recherche agronomique, à l'exception des sommaires et résumés.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4).

Marc SIMONET

Marc SIMONET est décédé le 19 septembre 1965. Avec lui disparaît un chercheur qui fut un éminent cytologiste et l'un des initiateurs de la cytogénétique en France.

Né à Paris le 22 mai 1899, une vocation de biologiste qui se développa au contact des cultures florales de Verrières-le-Buisson et de maîtres jardiniers réputés, le fit entrer à l'École municipale d'Horticulture de la ville de Paris puis à l'École nationale d'Horticulture de Versailles. Il y bénéficia d'un enseignement qui ne fit qu'accroître son désir d'étudier la nature.

Sorti premier de l'École nationale d'Horticulture et titulaire d'un stage de perfectionnement du Ministère de l'Agriculture, son initiation à la génétique commença en 1922 au contact de celui qu'il a toujours considéré comme son maître : le Professeur BLARINGHEM.

Ses premiers travaux sur l'amélioration des plantes eurent pour cadre le laboratoire de recherche des Établissements Vilmorin-Andrieux à Verrières-le-Buisson de 1923 à 1931. C'est à cette époque que sous la direction de GUILLERMOND il commença ses recherches de cytologie.

L'Iris, genre important, fort bien représenté en formes horticoles et en hybrides interspécifiques, lui permit de découvrir la nature polyploïde du gigantisme observé chez certaines d'entre elles et de préciser leur origine hybride. Une thèse de doctorat de l'Université de Paris, soutenue en 1932, fit connaître ces découvertes, en même temps qu'elle mettait l'accent sur certaines relations d'ordre cytotaxonomique-phylogénétique et géographique, existant entre les formes étudiées.

Tout au long de sa carrière, malgré de nombreux travaux conduits sur d'autres sujets, SIMONET n'abandonna jamais les Iris, abordant sans cesse l'analyse de nouveaux groupes botaniques et créant, par hybridation, des formes nouvelles.

Affecté en 1931 au Centre de la Recherche scientifique comme chargé, puis comme maître de recherches, il fit un séjour de plusieurs mois au jardin botanique de Kew près de Londres et au laboratoire de cytogénétique de l'Institut horticole John Innes (Merton). Il y fut au contact de biologistes réputés. La richesse de plusieurs collections botaniques privées anglaises, auxquelles il eut accès, lui permit de poursuivre ses études de cytogénétique sur de nouvelles plantes et de soutenir une thèse d'Ingénieur-Docteur de l'Université de Paris en 1934.

En 1936 il fut nommé, après concours, directeur de la Station de Botanique du Centre de Recherches agronomiques de Provence (Villa Thuret) à Antibes, où il étudia les belles collections de l'arboretum ainsi que certaines espèces végétales intéressantes de la région : Eucalyptus, Cistes, Agrumes, Figuiers, etc. C'est à Antibes que SIMONET fit connaître, pour la première fois en France, l'action polyploï-

disante de la colchicine, découverte quelques mois auparavant, aux États-Unis, par Blakeslee.

Un détachement pendant cinq ans (1942-1947) aux Établissements Vilmorin-Andrieux, lui permit de réorganiser le service scientifique de cet important établissement de sélection et de montrer l'intérêt pratique des résultats théoriques acquis en matière de polyploïdes et d'hybrides amphidiploïdes.

Revenu en 1948 à la Station centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'Institut national de la Recherche agronomique à Versailles, il y développa les recherches de cytogénétique en s'appliquant à créer, par croisements interspécifiques entre le Blé tendre, les *Triticum, Aegilops* et *Agropyron* voisins, des géniteurs porteurs de caractéristiques intéressantes, notamment des résistances aux maladies. De nombreuses plantes nouvelles, utilisées en sélection et décrites dans divers mémoires parus dans les Annales de l'Amélioration des Plantes ou dans les comptes rendus de la Station d'Amélioration des Plantes de Versailles furent le fruit de ces recherches.

Il eut également l'occasion de faire travailler à son laboratoire, les jeunes cytogénéticiens qui ont montré, depuis, grâce à leurs travaux, l'excellence de la formation reçue de lui.

Marc Simonet se savait atteint sérieusement, depuis longtemps, mais son acharnement au travail était d'autant plus grand qu'il savait que le temps lui était mesuré. Il est mort à la tâche, donnant un exemple de courage qui mérite estime et respect.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 339-349

CORRÉLATIONS ENTRE LA MUTAGENÈSE, L'ORGANOGENÈSE ET LA PRÉCOCITÉ CHEZ LE BLÉ. OBSERVATIONS PRÉLIMINAIRES (1)

J. GILLOT et P. DOMMERGUES
avec la collaboration technique de R. BODERGAT

Euratom et Institut national de la Recherche agronomique,
Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques du Centre-Est, Dijon (Côte-d'Or)

SOMMAIRE

A la suite d'un traitement mutagène réalisé sur le blé à l'aide du méthane sulfonate d'éthyle (M.S.E.) nous avons analysé, en fonction du niveau de ploïdie, de l'échelonnement de l'épiaison des différentes talles et de la précocité des variétés étudiées, d'une part la stérilité induite sur les épis des plantes traitées M_1 (2) et d'autre part, le taux des mutations chlorophylliennes observées sur les plantes en M_2.

L'irrégularité des résultats obtenus par nous-mêmes ou publiés par divers auteurs (1) à (5) au cours d'expériences relatives à la mutagenèse des Céréales nous a incité à préciser pour différentes espèces de *Triticum*, les rôles joués par la précocité et l'ontogenèse des talles sur le taux des mutations induites.

En vue de cet objectif, nous avons utilisé trois espèces de blé dont le niveau de ploïdie est différent : *Triticum monococcum* ($2n = 14$), *Triticum persicum* ($2n = 28$) et *Triticum vulgare* ($2n = 42$). Pour chacune d'elles, nous avons choisi quelques variétés qui se différencient totalement par leur précocité. Le tableau 1 donne en nombre de jours à l'épiaison les positions relatives des différentes

TABLEAU 1

Précocité des variétés

Espèces	*Triticum persicum*				*Triticum monococcum*					*Triticum vulgare*
Variétés	339	124	360	175	*Fylgia*	156	157	43	56	*Chinese spring*
Nbre de jours	— 5	— 1	— 1/2	0	0	0	+ 2	+ 5	+ 7	— 2

(1) Recherche effectuée en collaboration avec les Services de Biologie de la Direction générale Recherches et Enseignement de l'EURATOM.

(2) M_1 : génération du traitement.

variétés par rapport à un témoin traditionnel, la variété de printemps *Fylgia*. L'ordre de précocité ainsi obtenu figurera, pour chaque espèce, dans les tableaux qui vont suivre.

Le traitement a été réalisé sur grains secs. Il a été effectué simultanément pour toutes les origines variétales retenues, en plaçant le matériel dans le même bain mutagène constitué par une solution aqueuse de méthane sulfonate d'éthyle à la concentration de 3 g/l. La durée du traitement a été de 24 heures et la température de 23°C.

L'objectif de l'expérience n'étant pas d'obtenir un taux optimum de mutations, nous avons utilisé une méthode de traitement adaptée aux différentes sensibilités des variétés étudiées vis-à-vis du M.S.E.

Après le traitement, les grains ont été lavés à l'eau courante, légèrement ressuyés et semés en caissettes. Les plantules M_1 ont été repiquées à l'écartement de 10 cm × 25 cm dans une planche de 1,50 m. de large. Cette méthode favorise le tallage et facilite le marquage des épis ainsi que leur récolte séparée.

A la montaison, nous n'avons marqué que les trois premières talles de chaque plante (5) et nous avons récolté séparément les épis marqués et les épis non marqués, obtenant ainsi respectivement les catégories A et B pour les témoins, A′ et B′ pour les plantes traitées.

Quant aux plantules M_2, elles furent observées en serre au moment de la sortie de la 2^e^ feuille. L'analyse du matériel n'a porté que sur les déficiences chlorophylliennes : *albina, viridis, xantha* et *albo-viridis*

I. — INFLUENCE DU TRAITEMENT SUR LA FERTILITÉ DES PLANTES TRAITÉES

Le tableau 2 récapitule les données enregistrées sur les plantes traitées (M_1) et leurs témoins respectifs. L'analyse de ce tableau montre que la fertilité des épis, c'est-à-dire le nombre de grains par épi qui varie en fonction de la variété et de la date d'épiaison des talles, est diversement affectée par le traitement mutagène.

1. *Analyse de la fertilité des épis en fonction de la date d'épiaison des talles*

Pour chaque variété, comparons la fertilité des épis classés dans les catégories A et B. Les résultats de ces analyses partielles sont rassemblés dans le tableau 3. Dans tous les cas sauf un (variété 157 après traitement) il apparaît une différence hautement significative entre la fertilité des 3 premières talles (catégories A et A′) et l'ensemble des autres (B et B′).

Calculons maintenant pour chaque variété le rapport de fertilité entre les catégories A et B. Puis comparons pour chaque espèce les moyennes des rapports obtenus sur témoins (A/B) et sur plantes traitées (A′/B′). Le tableau 4 synthétise ces résultats. Ceux-ci ne permettent pas de conclure à une action différente du traitement sur les deux catégories de talles. Par conséquent, nous poursuivons notre analyse en tenant compte exclusivement des trois premières talles épiées (catégories A et A′).

2. *Analyse de la fertilité des épis en fonction du niveau de ploïdie*

La comparaison par variété de la fertilité des talles témoins (A) et des talles issues de plantes traitées (A′) conduit aux résultats inscrits au tableau 5. Le traitement affecte donc de façon très significative la fertilité du *Triticum monococcum* et de façon moins significative celle du *Triticum vulgare*. En ce qui concerne *Triticum persicum*, le traitement n'a pas d'action aisément décelable sur la fertilité.

TABLEAU 2

Données enregistrées sur les plantes traitées M_1 et sur leurs témoins

Niveau de ploïdie des espèces	Variétés ou numéros des lignées	TÉMOINS						TRAITEMENTS					
		Talles marquées (A)			Talles non marquées (B)			Talles marquées (A′)			Talles non marquées (B′)		
		Nombre total d'épis	Nombre total de grains	Moyenne de grains par épi	Nombre total d'épis	Nombre total de grains	Moyenne de grains par épi	Nombre total d'épis	Nombre total de grains	Moyenne de grains par épi	Nombre total d'épis	Nombre total de grains	Moyenne de grains par épi
2n = 14	156	363	9 668	26,63	733	14 468	19,73	372	4 340	11,66	1 247	7 360	5,90
	157	291	5 800	19,93	1 844	23 248	12,60	381	2 868	7,52	1 434	10 520	7,33
	43	288	5 488	19,05	492	6 086	12,36	599	3 920	6,54	1 594	8 672	5,44
	56	309	5 168	16,72	811	8 220	10,13	284	1 645	5,79	1 172	4 971	4,24
	Pour l'ensemble de l'espèce	1 251	26 124	20,88	3 880	52 022	13,41	1 636	12 773	7,81	5 447	31 523	5,79
2n = 28	339	323	8 504	26,32	458	7 096	15,49	931	24 712	26,54	1 525	20 240	13,27
	124	259	8 800	33,97	283	6 848	24,19	1 043	34 832	33,40	1 299	31 076	23,92
	360	319	12 180	38,18	376	9 744	25,91	974	37 756	38,76	835	21 315	25,32
	175	319	9 950	31,19	400	9 474	23,68	869	26 740	30,77	1 100	24 370	22,15
	Pour l'ensemble de l'espèce	1 220	39 434	32,32	1 517	33 162	21,86	3 817	124 040	32,49	4 759	97 001	20,38
2n = 42	*C. S.*	411	11 672	28,30	239	2 782	11,64	2 024	53 440	26,40	1 159	8 348	7,20

A et A′ = Trois premières talles épiées et marquées.
B et B′ = Les autres talles épiées non marquées.

TABLEAU 3

Fertilité des épis en fonction de la date d'épiaison des talles

	2n = 14		2n = 28		2n = 42	
	Variétés	χ_1^2	Variétés	χ_1^2	Variétés	χ_1^2
Témoins	156 157 43 56	524** 988** 747** 812**	339 124 360 175	1 112** 447** 822** 369**	*C. S.*	1 907 **
Traitements	156 157 43 56	1 333** 1,47 NS 91** 120**	339 124 360 175	5 561** 1 844** 2 411** 1 387**	*C. S.*	13 996 **

NS : Non significatif.
** : Significatif au niveau de probabilité 0,01.

TABLEAU 4

Rapport de fertilité entre les catégories A et B

Espèce	(A/B) Témoins	(A′/B′) Traitements	Différence	Conclusions
2n = 14	1,53 ± 0,065	1,39 ± 0,205	0,14 ± 0,216	pas de différence significative
2n = 28	1,47 ± 0,084	1,57 ± 0,145	0,10 ± 0,166	pas de différence significative

A et A′ — 3 premières talles épiées.
B et B′ — les autres talles.

TABLEAU 5

Fertilité des épis en fonction du niveau de ploïdie

2n = 14		2n = 28		2n = 42	
Variétés	χ_1^2	Variétés	χ_1^2	Variétés	χ_1^2
156	2 158**	339	0,43 NS	*C. S.*	50**
157	1 966**	124	0,50 NS		
43	2 868**	360	2,11 NS		
56	1 537**	175	1,33 NS		

NS : Non significatif.
** : Significatif au niveau de probabilité 0,01.

TABLEAU 6

Fertilité et stérilité en fonction de la précocité

	Espèces	Variétés	Nombre d'épis	Nombre de grains récoltés	Nombre de grains espérés	χ^2_3
Témoins	$2n = 14$	156	363	9 668	7 580	
		157	291	5 800	6 077	
		43	288	5 488	6 015	888**
		56	309	5 168	6 452	
			1 251	26 124	26 124	
	$2n = 28$	339	323	8 504	10 440	
		124	259	8 800	8 372	
		360	319	12 180	10 311	730**
		175	319	9 950	10 311	
			1 220	39 434	39 434	
Traitements	$2n = 14$	156	372	4 340	2 904	
		157	381	2 868	2 975	
		43	599	3 920	4 677	982**
		56	284	1 645	2 217	
			1 636	12 773	12 773	
	$2n = 28$	339	931	24 712	30 254	
		124	1 043	34 832	33 895	
		360	974	37 756	31 652	2 296**
		175	869	26 740	28 239	
			3 817	124 040	124 040	

** : Significatif au niveau de probabilité 0,01.

TABLEAU 7

Stérilité créée en A′ chez Triticum monococcum

Variétés	Nombre de grains par épi chez les témoins (A) (calculé sur l'ensemble de la population)	Nombre de grains par épi chez les plantes traitées (A′) (calculé sur l'ensemble de la population)	Stérilité en % $100 \cdot \frac{A - A'}{A}$
156	26,63	11,66	56
157	19,93	7,52	62
43	19,05	6,54	66
56	16,72	5,79	65

Si l'importante chute de fertilité, observée au niveau des diploïdes, est provoquée par des aberrations chromosomiques graves, l'expérience met nettement en lumière le rôle tampon joué par l'allopolyploïdie.

3° *Analyse de la fertilité et de la stérilité en fonction de la précocité des variétés*

Qu'il s'agisse des témoins ou des lots traités au M.S.E., le tableau 6 met en évidence une différence hautement significative entre variétés en matière de fertilité des épis. Il est néanmoins impossible de trouver une corrélation significative entre ces différences de fertilité et l'ordre de précocité des variétés.

Si nous calculons maintenant pour chaque variété du *Triticum monococcum* le pourcentage de stérilité créée par le traitement au niveau des 3 premières talles épiées (A'), nous obtenons les résultats figurant au tableau 7. Malgré une légère augmentation de ce pourcentage parallèlement à un accroissement de tardiveté, il est cependant impossible d'invoquer une corrélation significative entre les deux facteurs.

II. — INFLUENCE DU TRAITEMENT MUTAGÈNE SUR LES TAUX DE MUTATIONS CHLOROPHYLLIENNES

Le tableau 8 présente la situation d'ensemble des 9 variétés après l'étude de la M_2.

L'efficacité du traitement mutagène tient compte du pourcentage relativement faible des mutations spontanées observées dans la M_2 des témoins. Pour le *Triticum monococcum* et le *Triticum persicum*, nous avons noté 0,1 p. 100 de mutations spontanées ; pour le *Triticum vulgare* 0,03 p. 100. Dans ce cas, il est bien évident que le traitement agit d'une façon significative sur l'augmentation du taux global des mutations.

1. *Analyse des taux de mutations en fonction de la date d'épiaison des talles*

Les résultats récapitulés au tableau 9 sont différents selon les espèces :

Pour le *Triticum monococcum*, il n'existe pas de différence significative entre les taux des mutations des 3 premières talles épiées (A') et celui de l'ensemble des suivantes.

Pour le *Triticum persicum* et le *Triticum vulgare*, l'interaction taux de mutations et date d'épiaison est significative. Les taux de mutations sont d'ailleurs plus élevés pour les talles épiées tardivement.

Essayons de comprendre cette différence de comportement entre les espèces en nous reportant à la structure des embryons au moment du traitement. Dans un embryon de blé à l'état de dormance, on distingue l'apex et deux ébauches foliaires. Au moment du traitement, la première talle ou brin-maître, correspond donc à un apex nettement différencié. Les talles suivantes, nées à l'aisselle des deux ébauches foliaires préexistantes ont pour origine des massifs cellulaires plus petits. Les talles postérieures à ces dernières pourraient même n'avoir pour filiation qu'une seule cellule au moment du traitement. On peut donc penser que la dimension relative des secteurs mutés sur une talle croît en fonction inverse de l'état de son développement au moment du traitement.

TABLEAU 8

Étude de la M_2

Espèces	Variétés ou numéros des lignées	Nombre de plantes M_2 observées ([1])		Nombre de plantes M_2 mutées		Nombre de plantes M_2 mutées en %		Pourcentage total	Transformation ([2])
		Talles A′ ([3])	Talles B′ ([3])	Talles A′	Talles B′	Talles A′	Talles B′	A′ + B′	A′ + B′
	156	2 213	3 238	54	60	2,44	1,85	4,29	2,19
	157	2 237	5 365	78	160	3,49	2,98	6,47	2,64
$2n = 14$	43	3 058	6 245	141	251	4,61	4,02	8,63	3,02
	56	1 266	3 827	72	173	5,69	4,52	10,21	3,27
		8 774	18 673	345	644				
	339	22 488	19 633	72	68	0,32	0,35	0,57	1,03
	124	33 438	30 765	177	219	0,53	0,71	1,24	1,32
$2n = 28$	360	35 113	20 249	192	169	0,55	0,83	1,38	1,37
	175	25 403	25 152	152	208	0,60	0,90	1,50	1,41
		116 442	93 799	593	664				
$2n = 42$	*C. S.*	45 958	7 263	44	29	0,10	0,40	0,50	1,00

([1]) Les différences entre les nombres de grains mentionnés au tableau 2 et les nombres de plantules observées en M_2 résultent des qualités germinatives respectives des différents lots.

([2]) Transformation en $\sqrt[2]{\ }$ taux de mutation + 1/2 : préférable car pourcentages faibles.

([3]) A′ — Trois premières talles épiées.
B′ — Talles suivantes.

Certes, la possibilité pour une cellule de donner naissance à toute une talle est faible, mais non négligeable. Nous avons en effet observé, à plusieurs reprises, des talles totalement déficientes en chlorophylle. Dans tous les cas, il s'agissait d'une huitième ou neuvième talle.

TABLEAU 9

Mutations en fonction de la date d'épiaison des talles

Espèces	Catégories ou ordre d'épiaison des talles	Nombre de plantes mutées (entre crochets, valeurs théoriques)		Nombre de plantes normales (entre crochets, valeurs théoriques)		Totaux	χ^2_1
$2n = 14$	A′	345	(317)	8 774	(8 802)	9 119	3,83 NS
	B′	644	(672)	18 673	(18 645)	19 317	
$2n = 28$	A′	593	(695)	116 442	(116 340)	17 035	32,20**
	B′	664	(562)	93 799	(93 901)	94 463	
$2n = 42$	A′	44	(64)	45 958	(45 938)	46 002	10,69**
	B′	29	(9)	7 263	(7 283)	7 292	

NS : Non significatif. A′ : Trois premières talles épiées.
** : Significatif au niveau de probabilité 0,01. B′ : Talles suivantes.

Admettons que le traitement n'affecte pas ce processus ontogénique et comparons maintenant les tallages moyens respectifs des variétés de *Triticum monococcum* et *Triticum persicum* (tabl. 10). Les catégories A′ (3 premières talles épiées) ont la même origine ontogénique pour le *Triticum monococcum* et le *Triticum persicum*. Il en va différemment pour les catégories B′. Ces dernières correspondent en moyenne

TABLEAU 10

Tallages moyens respectifs des variétés

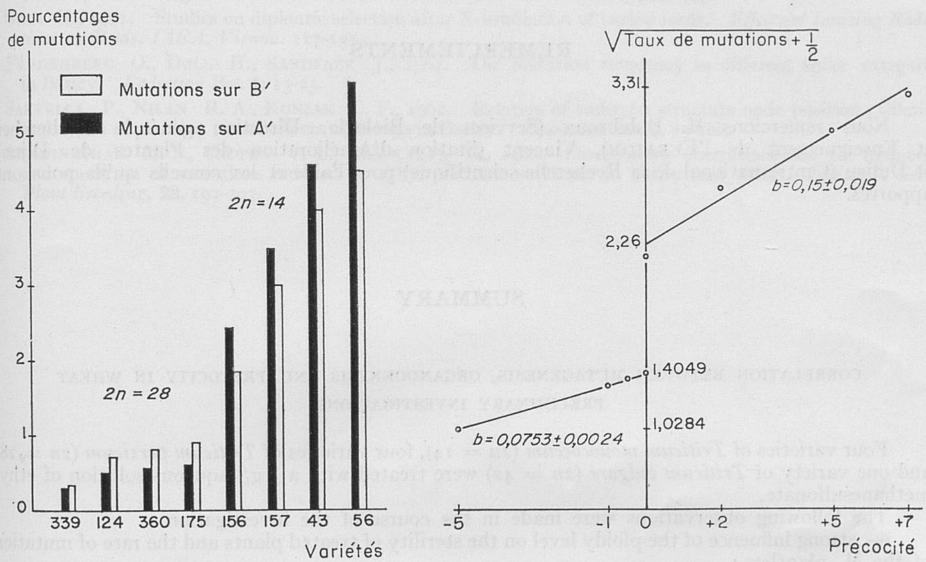
Espèces	$2n = 14$				$2n = 28$				$2n = 42$
Variétés	156	157	43	56	339	124	360	175	*C.S.*
Nombre moyen de talles par plante chez les Témoins	9,6	9,33	9,14	6,2	5,58	5,25	3,60	4,20	93,
Moyennes	8,57 ± 1,58				4,65 ± 0,91				

pour le *Triticum monococcum* à 5 ou 6 épis et pour le *Triticum persicum* à 1 ou 2 épis.

Cette différence, compte tenu des remarques ontogéniques précédentes, est vraisemblablement suffisante pour expliquer le phénomène mis en évidence au tableau 9.

2. *Analyse du taux de mutations en fonction des espèces et variétés*

Un examen rapide du tableau 8 met en lumière l'influence du niveau de ploïdie sur le taux de mutations et notamment pour le *Triticum monococcum* et le *Triticum persicum*. Mais une étude plus détaillée dans le cadre de chaque espèce révèle l'existence d'un parallélisme entre la précocité des variétés, telle qu'elle apparaît au tableau 1, et le taux des mutations après transformation en $\sqrt[2]{\text{taux de mutations} + 1/2}$.



Le graphique 1 montre en effet une variation linéaire différente pour chacune des deux espèces. Les coefficients de régression varient d'ailleurs du simple au double selon que l'espèce est diploïde ou tétraploïde

$$b_{2n} = 0{,}15 \pm 0{,}019 \quad \text{et} \quad b_{4n} = 0{,}0753 \pm 0{,}024.$$

Notons également que le test de la différence entre les deux coefficients de régression ($t = 3{,}335$) est significatif au seuil de probabilité de 0,05.

L'interaction entre la précocité et le taux de mutations semble donc évident dans ce cas particulier. Des études ultérieures permettront sans doute de préciser ce point.

III. — CONCLUSIONS

L'étude de la stérilité induite sur plantes M_1 montre que le traitement a entraîné :
— une stérilité d'autant plus forte que le niveau de ploïdie était plus bas ;
— une diminution uniforme de la fertilité des épis quels que soient l'ordre d'épiaison des talles et l'ordre de précocité des variétés étudiées.

En matière de fréquence des mutations chlorophylliennes observées sur plantes M_2 le traitement a fait apparaître :

— une incidence très nette du niveau de ploïdie ;

— une régression linéaire des taux de mutations en fonction inverse de la précocité avec des coefficients de régression qui varient du simple au double du *Triticum monococcum* au *Triticum persicum* ;

— une liaison entre les taux de mutations et l'ordre d'épiaison des talles pour *Triticum persicum* et *Triticum vulgare*.

REMERCIEMENTS

Nous remercions M. Dalebroux (Services de Biologie, Direction générale Recherches et Enseignement de l'EURATOM), Vincent (Station d'Amélioration des Plantes de Dijon) et Dulieu (Centre national de la Recherche scientifique) pour l'aide et les conseils qu'ils nous ont apportés.

SUMMARY

CORRELATION BETWEEN MUTAGENESIS, ORGANOGENESIS AND PRECOCITY IN WHEAT PRELIMINARY INVESTIGATIONS

Four varieties of *Triticum monococcum* ($2n = 14$), four varieties of *Triticum persicum* ($2n = 28$) and one variety of *Triticum vulgare* ($2n = 42$) were treated with a 3 g/l aqueous solution of ethyl methanesulfonate.

The following observations were made in the course of the investigation :

— strong influence of the ploidy level on the sterility of treated plants and the rate of mutation of the M_2 plantlets ;

— linear regression, within each species, between the mutation rate and the precocity of the varieties ;

— a connection between the rate of mutation and the order of sprouting of tillers in the case of the species *Triticum persicum and Triticum vulgare*.

ZUSAMMENFASSUNG

WECHSELBEZIEHUNGEN ZWISCHEN DER MUTAGENESIS, DER ORGANOGENESIS UND DER FRÜHREIFE DES WEIZENS. VORLÄUFIGE BEOBACHTUNGEN

Vier Sorten von *Triticum monococcum* ($2n = 14$), vier Sorten von *Triticum persicum* ($2n = 28$) und eine Sorte von *Triticum vulgare* ($2n = 42$) wurden mit Methan-Äthylsulfonat in wässeriger Lösung (3 g/l)behandelt.

Im Laufe dieser Untersuchung wurden namentlich die folgenden Tatsachen festgestellt :

— ein starker Einfluss des Ploïdieniveaus auf die Sterilität der behandelten Pflanzen und auf den Mutationssatz der Setzlingen M_2 ;

— eine lineare Regression innerhalb jeder Art zwischen dem Mutationssatz und der Frühreife der Sorten ;

— eine Beziehung zwischen dem Mutationssatz und der Ährenbildungsfolge der Schösslingen für die Arten *Triticum persicum* und *Triticum vulgare*.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

FROESE-GERTZEN E. E., KONZAK C. F., NILAN R. A., HEINER R. E., 1964 The effect of ethyl methane sulfonate on the growth response, chromosome structure and mutation rate in barley. *Radiation Bot.* **4**, 61-69.

EHRENBERG L., GUSTAFSSON A., LUNDQUIST U., 1961. Viable mutants induced in barley by ionizing radiations and chemical mutagens. *Hereditas*, **47**, 243-282.

FROESE-GERTZEN E. E., KONZAK C. F., FOSTER R. J., NILAN R. A., 1963. Correlation between some chemical and biological reactions of ethyl methane sulfonate. *Nature*, **198**, 447.

GAUL H., 1961. Studies on diplontic selection after X-irradiation of barley seeds. *Effects of Ionizing Radiations on Seeds, IAEA. Vienna.* 117-138.

FRYDENBERG O., DOLL H., SANDFAER J., 1964. The mutation frequency in different spike categories in Barley. *Radiation Bot.* **4**, 13-25.

SARVELLA P., NILAN R. A., KONZAK C. F., 1962. Relation of embryon structure node position ; tillering and depth of planting to the effects of X-rays in Barley. *Radiation Bot.* **2**, 89-108.

SWAMINATHAN M. S., CHOPRA V. L., BRASKARAN D., 1962. Chromosome aberrations and the frequency and spectrum of mutations induced by ethyl methane sulfonate in barley and wheat. *Indian J. Genet. Plant Breeding*, **22**, 192-207.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 351-357

ANALYSE MONOSOMIQUE DE LA RÉSISTANCE À LA ROUILLE NOIRE (*PUCCINIA GRAMINIS TRITICI* VAR. RACE 21) DE LA VARIÉTÉ DE BLÉ TENDRE *KENYA FARMER*

Nicole MAIA et R. ÉCOCHARD
avec la collaboration technique de S. VERGARA

Station centrale d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

SOMMAIRE

La résistance à la race 21 de Rouille noire de la variété *Kenya Farmer* est sous la dépendance de 6 gènes différents localisés sur les chromosomes 5A, 6B, 7B, 1B, 5D, 7D.

INTRODUCTION

La variété de blé *Kenya Farmer* (*Kenya* 338 A-C 2E2) issue du croisement (*Button's* × 73 D 21 1 (L) × *Bobin* × *Gaza.* a été très utilisée comme géniteur de résistance à la Rouille noire *Puccinia graminis tritici* ERIKS et HENN. La résistance s'étend à de nombreuses races : entre autres aux races 15 B, 56, 38 et 21. La connaissance du déterminisme génétique de la résistance et du mode d'action des gènes en cause, outre son intérêt théorique, est très utile pour le sélectionneur. La mise au point par SEARS de méthodes d'analyse génétique basée sur l'emploi des aneuploïdes du blé tendre, a permis d'intensifier les recherches dans ce domaine.

L'identification et la localisation des gènes de résistance à la Rouille noire de la variété *Kenya Farmer* ont fait l'objet de nombreux travaux.

KNOTT a montré que la résistance à la race 15 B, était contrôlée par le gène Sr 7 localisé sur le chromosome 4B. Pour la race 56, 4 gènes entrent en jeu : ce sont les gènes Sr 9 portés par le chromosome 2 B, Sr 11 et Sr 12 portés par le chromosome 6 B et le gène Sr 10 non localisé au cours de cette étude.

Selon ORTEGA Sr 10 serait situé sur le chromosome 5D. La variété *Kenya Farmer*, posséderait en outre, sept autres chromosomes porteurs de gènes de résistance pour les 14 races physiologiques qu'il a étudiées : à savoir : les chromosomes 5A, 2B, 3B, 4B, 6B, 1D, 2D.

PI a montré que les chromosomes 1B, 3B, 6B, 7B, 7D de *Kenya Farmer* portent des gènes de résistance à la race 38. Ceci tendrait à démontrer que la résistance à une race de Rouille noire est sous la dépendance d'un plus grand nombre de gènes que ne le laissaient supposer les travaux antérieurs. D'une façon générale le nombre de gènes mis en évidence par l'analyse monosomique est supérieur à celui qui ressort des analyses génétiques classiques.

Dans les lignées monosomiques dites « critiques » dont le monosome porte un gène de résistance, les auteurs ont observé par rapport à la lignée témoin issue du croisement avec une plante disomique. soit une augmentation du nombre de plantes résistantes. soit une augmentation du nombre de plantes sensibles. La déviation dans le premier cas peut être expliquée par la présence d'un gène de résistance porté par le chromosome à l'état d'univalent, dans le second cas, par la présence d'un gène récessif non actif à l'état hémizygote.

SNYDER et *al.* ont repris l'étude des gènes de résistance de *Kenya Farmer* vis-à-vis de la race 15 B, en utilisant plusieurs isolats de cette même race. La résistance à la race 15 B, serait due non pas à un gène unique Sr 7, mais à des gènes portés par les chromosomes 2A, 4A, 4B, 5B et 5D. D'autre part les chromosomes 3B et 7D seraient porteurs de gènes inhibiteurs de résistance, dont l'effet se traduit par un excès de plantes sensibles dans les lignées critiques correspondantes.

LOEGERIN et SEARS ont montré que le chromosome 6B de la variété *Timsteur*, portait un seul gène de résistance, et non pas deux gènes liés Sr 11 et Sr 12. Le gène Sr 12 serait en fait localisé sur le chromosome 3B.

Le déterminisme génétique d'une variété de blé vis-à-vis d'une race de Rouille noire, semble donc être plurifactoriel.

On ne peut affirmer que le gène porté par un chromosome actif vis-à-vis d'une race de Rouille noire, soit le même que celui porté par le même chromosome vis-à-vis d'une autre race de Rouille noire. Il était donc intéressant d'étudier le nombre et la localisation des gènes de résistance vis-à-vis de la race 21, qui est la race prédominante en France et dans une partie de l'Europe.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Les lignées monosomiques de la variété *Chinese Spring* utilisées dans cette étude sont celles de E. R. SEARS. Les 21 lignées monosomiques ont été croisées à Versailles au cours des années 1960 et 1961, par la variété *Kenya Farmer*. L'analyse monosomique a été conduite sans tri cytologique en F_1 des plantes à 41 chromosomes.

Les lignées critiques sont détectées, dans ce cas. grâce à une répartition anormale des plantes F_2 résistantes et sensibles. par rapport à l'ensemble des autres lignées. Si cette méthode d'analyse présente l'inconvénient d'être moins rigoureuse, elle permet d'étudier un plus grand nombre de descendants. Pour remédier à ceci, les descendances des plantes F_1, obtenues pour chaque monosome, ont été considérées séparément. Théoriquement dans chaque F_1 issue du croisement entre une plante disomique et une plante monosomique, 75 p. 100 des plantes sont monosomiques. Donc dans les lignées critiques, seulement 75 p. 100 des F_2 présenteront une répartition anormale par rapport à l'ensemble des autres lignées.

L'étude de la résistance a été faite en serre au stade plantule. Les plantes ont été cultivées à une température de 10° avec 16 heures d'éclairement et contaminées au stade 2 feuilles : les urédospores mélangées à du talc sont réparties par poudrage sur les feuilles, celles-ci étant au préalable arrosées d'un mouillant. On recouvre les plantes de tentes en polyéthylène pendant 48 heures, pour maintenir une humidité suffisante pendant la germination des spores.

La notation a été faite 12 jours après la contamination selon l'échelle de STAKMAN et LEVINE (12). Les plantes sont réparties en deux classes : Résistantes note 0 0 ; 1. Sensibles note 2, 3, 4. *Chinese Spring* est sensible (note 4) *Kenya* est résistant note 0 0 ; 1.

RÉSULTATS

Le tableau 1 donne le pourcentage de plantes résistantes dans chacune des 21 descendances monosomiques. Le pourcentage moyen de plantes résistantes pour

TABLEAU 1

Nº lignée monosomique utilisée dans le croisement avec *Kenya farmer*	Nombre plantes F_2 issues du croisement	Nombres observés		% plantes résistantes	P pour une répartition théorique 63,77 %
		R	S		
1 A	344	230	114	66,86	0,20 — 0,10
2 A	360	231	129	64,16	0,80 — 0,70
3 A	274	163	111	59,48	0,20 — 0,10
4 A	246	167	79	67,88	0,20 — 0,10
5 A	301	211	90	70,09	0,02 — 0,01
6 A	282	178	104	63,12	0,95 — 0,90
7 A	268	168	100	62,68	0,90 — 0,80
1 B	134	71	63	52,98	0,02 — 0,01
2 B	71	49	22	69,01	0,50 — 0,30
3 B	287	176	111	61,32	0,50 — 0,30
4 B	239	161	78	67,36	0,30 — 0,20
5 B	314	189	125	60,19	0,30 — 0,20
6 B	181	138	43	76,25	0,01
7 B	121	89	22	73,55	0,05 — 0,02
1 D	231	151	80	65,36	0,70 — 0,50
2 D	256	150	106	58,59	0,20 — 0,10
3 D	208	123	85	59,13	0,20 — 0,10
4 D	265	178	87	67,16	0,30 — 0,20
5 D	294	166	128	56,46	0,02 — 0,01
6 D	266	167	99	62,78	0,80
7 D	105	50	55	48,60	0,01
Total F_2	5 062	3 211	1 851	63,43	
Total F_2 à l'exception des lignées critiques	3 655	2 331	1 324	63,77	

l'ensemble des lignées est 63,43 p. 100. Six lignées monosomiques présentent une déviation significative par rapport à ce pourcentage moyen : dans les lignées mono 5A, mono 6B, mono 7 B, on observe une augmentation du nombre de plantes résistantes et une augmentation du nombre de plantes sensibles dans les lignées mono 1B,

mono 5D, mono 7D. Le pourcentage moyen de plantes résistantes dans les 15 lignées non critiques est 63,77 p. 100. Dans le tableau 1 figurent les valeurs de P, probabilité pour que les déviations observées dans chaque lignée monosomique par rapport à ce dernier pourcentage ne soient pas significatives. L'écart entre pourcentage observé

TABLEAU 2

Lignée monosomique	N° plante F_1	N observés		N théoriques		P pour une disj. 63,77 : 36,23
		R	S	R	S	
	1	17	9	16,58	9,42	
	2	19	11	19,13	10,87	
	3	20	9	18,49	10,51	
Mono 5A	4	23	5	17,85	10,15	excès de plantes résistantes
	5	7	1	5,10	2,90	
	6	17	10	17,21	9,79	
	7	48	22	44,63	25,37	
	8	50	23	52,92	30,08	
	1	16	13	18,49	10,51	
	2	16	9	15,94	9,06	
Mono 1B	3	14	13	17,21	9,79	excès de plantes sensibles
	4	15	12	17,21	9,79	
	5	10	16	16,58	9,42	
Mono 6B	1	75	29	66,32	37,68	excès de plantes résistantes
	2	63	14	49,10	27,90	
Mono 7B	1	44	15	37,62	21,38	excès de plantes résistantes
	2	45	17	39,53	22,48	
	1	14	12	16,58	9,42	
	2	3	5	5,10	2,90	
	3	14	11	15,94	9,06	
	4	15	15	19,13	10,87	excès de plantes sensibles
Mono 5D	5	12	13	15,94	9,06	
	6	13	13	16,58	9,42	
	7	48	27	47,82	27,18	
	8	47	32	50,37	28,63	
	1	15	12	17,21	9,79	
	2	1	5	3,82	2,18	
Mono 7D	3	5	3	5,10	2,90	excès de plantes sensibles
	4	9	16	15,94	9,06	
	5	13	7	12,75	7,25	
	6	7	12	12,11	6,89	

et pourcentage théorique dans les lignées critiques est fonction du nombre de plantes F_2, issues de plantes monosomiques. Dans le tableau 2 figurent les disjonctions observées dans les différentes F_2 composant les six lignées critiques, ainsi que les proportions théoriques correspondant à un pourcentage de 63,77 p. 100 de plantes résistantes. La plupart des déviations pour chaque famille F_2 prise séparément ne sont pas significatives. Le nombre de plantes F_2 qui les composent est très faible,

mais toutes les déviations sont dans le même sens pour une même lignée monosomique et ne peuvent être dues à la fluctuation. Le tableau 2 montre clairement que les 3/4 environ des familles sont déviées par rapport à la ségrégation théorique, ces familles correspondent aux plantes F_1 qui avaient 41 chromosomes ; les autres issues de plantes à 42 chromosomes ont une distribution normale et identique à celle des familles non critiques, dans lesquelles les déviations sont réparties aléatoirement de part et d'autre de ce pourcentage moyen.

DISCUSSION

Dans aucune lignée monosomique, on n'observe de descendance homogène résistante : la résistance serait donc due à l'action de gènes complémentaires ou additifs. L'analyse monosomique révèle que six gènes agissent sur la résistance. Parmi ces six gènes il faut distinguer, les gènes de résistance proprement dits, portés par les chromosomes 5A, 6B, 7B et pour lesquels on observe une augmentation du nombre de plantes résistantes dans les lignées monosomiques correspondantes, et les gènes portés par les chromosomes 1B, 5D, 7D qui diminuent cette résistance ; ces derniers gènes peuvent être des gènes récessifs non actifs à l'état hémizygote (PI) soit des gènes inhibiteurs de résistance (SNYDER et *al.*). L'action de tels gènes de sensibilité agissant comme modificateurs des gènes majeurs de résistance a été montrés par POCAARD et *al.*

Étant donné le nombre de gènes intervenant dans le phénomène de résistance, il n'est pas possible de donner une explication génétique simple de la ségrégation observée en F_2. Le pourcentage de plantes résistantes dans les lignées non critiques pourrait être interprété comme une disjonction bifactorielle de type 10 : 6 ou tri factorielle 40 : 24. Mais ces résultats en F_2 ne sont pas compatibles avec ceux de l'analyse monosomique qui révèle six gènes en disjonction.

Les résultats obtenus pour la race 21 sont comparables à ceux obtenus par les différents auteurs utilisant d'autres races de Rouille noire pour le nombre de gènes mis en jeu et le mode d'action de ces gènes. Les six chromosomes critiques pour la race 21, ont été identifiés comme portant des gènes de résistance à d'autres races de Rouille noire.

L'action du chromosome 6B est assez générale. PI a localisé un gène majeur de résistance sur ce chromosome pour la race 38. ORTEGA a montré que ce chromosome portait un gène ou des gènes effectifs vis-à-vis de plusieurs races physiologiques. LOEGERING et SEARS ont localisé un gène de résistance sur le chromosome 6B de la variété *Kenya Farmer*, alors que KNOTT l'avait identifié comme porteur des gènes Sr 11 et Sr 12 de la variété *Kenya Farmer*. Le chromosome 5A, selon ORTEGA porte 1 gène de résistance. Les résultats obtenus pour le gène situé sur le chromosome 7B, sont différents pour les races 38 et 21, ce gène serait dominant pour la race 21, récessif pour la race 38. Ceci est comparable aux résultats obtenus par SHEEN et SNYDER pour le gène porté par le chromosome 3B, récessif vis-à-vis des races 11 et 186, dominant vis-à-vis de la race 111. Selon ces auteurs, il s'agirait de deux loci différents, très proches l'un de l'autre ; ceci les amène à formuler l'hypothèse de plusieurs loci

étroitement liés, conditionnant la résistance aux différents généotypes de *Puccinia graminis*, var. *tritici*. L'action du chromosome 1B, est légèrement différente pour les deux races 38 et 21. Pour la race 21, il y a augmentation significative du nombre de plantes sensibles dans la lignée monosomique correspondante. Pour la race 38 dans les deux classes qui forment le groupe des plantes résistantes (résistantes modérément résistantes) alors que le nombre total de plantes résistantes n'est pas significativement différent du témoin, il y a excès de la catégorie « modérément résistante : donc en fait diminution de la résistance.

L'action des chromosomes 5D et 7D se retrouve pour d'autres races de Rouille. Le chromosome 5D serait porteur du gène Sr 10, qui serait un gène récessif non actif à l'état hémizygote. Le chromosome 7D a une action comparable pour les races 38, 15B et 21. Selon SNYDER et *al.* ce gène serait un inhibiteur de résistance.

Dans le cas d'un caractère tel que la résistance à la Rouille noire, conditionné par un grand nombre de gènes, seule l'analyse monosomique permet une étude génétique plus précise. En effet au-delà de 3 couples de gènes, l'analyse génétique classique en F_2 et en F_3 est pratiquement impossible.

CONCLUSION

Une analyse monosomique de la résistance à la Rouille noire (*Puccinia graminis tritici* var. race 21) de la variété *Kenya Farmer* a permis de mettre en évidence l'activité de six gènes répartis sur les chromosomes suivants : 5A, 6B, 7B et 1B, 5D, 7D. Les trois premiers donnent en F_2, un excès de plantes résistantes, les derniers un excès de plantes sensibles.

Reçu pour publication en octobre 1965.

SUMMARY

MONOSOMIC ANALYSIS OF THE RESISTANCE TO STEM RUST
(« PUCCINIA GRAMINIS TRITICI » VAR. RACE 21) OF THE « KENYA FARMER » VARIETY OF WHEAT

Monosomic analysis of the resistance to stem rust (*Puccinia graminis tritici* var. race 21) of the *Kenya Farmer* wheat variety has brought to light the activity of six genes spread over the following chromosomes : 5A, 6B, 7B, 1B, 5D, 7D. The first three give, at F_2, an excess of resistant plants and the latter three an excess of sensitive plants.

ZUSAMMENFASSUNG

MONOSOMATISCHE ANALYSE DER WIDERSTANDSFÄHIGKEIT DER WEICHWEIZENSSORTE
« KENYA FARMER » GEGEN SCHWARZROST (« PUCCINIA GRAMINIS TRITICI » VAR. RASSE 21)

Dank einer monosomatischen Analyse der Widerstandsfähigkeit der Sorte *Kenya Farmer* gegen Schwarzrost (*Puccinia graminis tritici* var. Rasse 21) wurde es möglich, die Aktivität von sechs Genen, die auf die Chromosomen 5A, 6B, 7B, 1B, 5D, 7D verteilt sind, nachzuweisen.

Durch die drei ersten wird in F_2 ein Uebermass an widerstandsfähigen Pflanzen, durch die letzten ein Uebermass an empfindlichen Pflanzen, erzeugt.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

KNOTT D. R., 1959. Monosomic analysis of rust resistance and some others characters in six varieties of wheat including *Gabo* and *Kenya Farmer*. *Canad. J. Plant Sci.*, **29**, 215-228.

LOEGERING W. Q., SEARS E. R., 1963. Distorted inheritance of stem rust resistance of *Timstein* wheat caused by a pollen killing gene. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **5**, 65-72.

ORTEGA J., 1961. Genetic factors controlling stem rust resistance in *Kenya Farmer* wheat.' *Diss. Abst.* 1961 21 LC CARD MIC. 61-584 285 2-53 Abst.

P. C. P., 1961. Monosomic analysis of stem rust reaction in *Kenya Farmer* wheat. *Bot. Bull.! Acad. Sci.*, **11**, 63-71.

POCHARD E., HUET J., VERGARA S., 1960. Étude génétique de la résistance à un biotype de Rouille noire *Puccinia graminis tritici* var. Race 21. I Facteurs de résistance portés par les variétés de blé tendre. G 80-3, *Celebration, Mac Murrachy* et *Nord-Desprez*. *Ann. Amélior. Plantes*, **10**, 61-84.

SEARS G. R., 1963. Nullisomic analysis in common wheat. *Amer. Naturalist*, **89**, 245-252.

SHEEN, SNYDER, 1964. Studies of the inheritance to six stem rust cultures using chromosome substitution lines of a *Marquis* wheat selection. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **6**, 74-82.

SNYDER L. A., MILLER J. D., PI C. P., 1963. Aneuploid analysis of resistance in a *Kenya* wheat to isolates of stem rust Race 15 B. *Canad. J. Genet. Cytol.*, **5**, 389-397.

STAKMAN E. C., LEVINE M. N., 1922. The determination of biologic forms of *Puccinia graminis* on *Triticum* sp. *Minnesota Agric. Exper. Sta. Techn. Bull.* **8**.

[illegible]

CONCLUSION

Une analyse monosomique de la résistance à la Rouille noire (*Puccinia graminis tritici* var. race 21) de la variété *Kenya Farmer* a permis de mettre en évidence [illegible] de six gènes répartis sur les chromosomes suivants : 5A, 6B, 7B et 1B; [illegible] Les trois premiers donnent en F_2 un excès de plantes résistantes, les derniers [illegible] excès de plantes sensibles.

Reçu pour publication [illegible]

SUMMARY

MONOSOMIC ANALYSIS OF THE RESISTANCE TO STEM RUST (PUCCINIA GRAMINIS TRITICI VAR. RACE 21) OF THE « KENYA FARMER » VARIETY OF WHEAT

Monosomic analysis of the resistance to stem rust (*Puccinia graminis tritici* var. race 21) of the *Kenya Farmer* wheat variety has brought to light the activity of six genes spread over the following chromosomes: 5A, 6B, 7B, 1B, [illegible]. The first three give, in F_2, an excess of resistant plants and the latter three an excess of sensitive plants.

ZUSAMMENFASSUNG

MONOSOMATISCHE ANALYSE DER WIDERSTANDSFÄHIGKEIT DER WEICHWEIZENSORTE « KENYA FARMER » GEGEN SCHWARZROST (PUCCINIA GRAMINIS TRITICI VAR. RASSE 21)

Dank einer monosomatischen Analyse der Widerstandsfähigkeit der Sorte *Kenya Farmer* gegen Schwarzrost (*Puccinia graminis tritici* var. Rasse 21) wurde es möglich, die Aktivität von sechs Genen, die auf die Chromosomen 5A, 6B, 7B, 1B, [illegible] verteilt sind, nachzuweisen.

Durch die drei ersten wird [illegible] ein Überschuss an widerstandsfähigen Pflanzen, durch die letzten ein Überschuss an empfindlichen Pflanzen, erzeugt.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 359-372.

RÉACTIONS MORPHOLOGIQUES DES PLANTULES DE *NICOTIANA TABACUM* L. ET DE *NICOTIANA GLUTINOSA* L. AU TRAITEMENT DES GRAINES PAR LE MÉTHANE SULFONATE D'ÉTHYLE. CONSÉQUENCES SUR L'APPARITION DE MUTATIONS CHLOROPHYLLIENNES SOMATIQUES

H. DULIEU [1]

Station d'Amélioration des Plantes,
Centre de Recherches agronomiques du Centre-Est, Dijon (Côte-d'Or) et
Laboratoire de Botanique de la Faculté des Sciences, Dijon (Côte-d'Or)

SOMMAIRE

Les observations préliminaires présentées ici ont pour but de montrer comment l'effet mutagène apparent du MSE sur la population traitée est en relation, d'une part, avec la structure histologique des embryons au niveau de l'épicotyle et d'autre part, avec les réactions de ce dernier à l'effet perturbateur du traitement sur la multiplication des cellules méristématiques.

INTRODUCTION

Les substances mutagènes peuvent provoquer au niveau des cellules des plantes M_1 [2] une hétérogénéité héréditaire. On considère qu'une mutation se transmet de la cellule initialement modifiée à une descendance somatique de plus en plus étendue, jusqu'à se généraliser éventuellement à toute la plante. Il en est ainsi des mutations cholophylliennes.

Les réactions chlorophylliennes en M_1 ont été utilisées comme critère d'efficacité mutagène par quelques auteurs. KAPLAN (1954) a bien établi qu'après action des rayons X, chaque plage déficiente est due à la multiplication d'un clone cellulaire issu d'une cellule traitée ; les mutations observées sur les premières feuilles de plantules de Soja seraient de type chromosomique : délétions terminales des chromosomes ; cassures doubles et duplications, ces dernières impliquant des réarrangements. Le fractionnement de la dose en deux valeurs égales séparées par des

(1) Chercheur au Centre national de la Recherche scientifique.
(2) M_1 : population qui a subi le traitement mutagène.
M_2 : première génération issue de M_1 par autofécondation.

temps variables, provoque une chute de la fréquence des plages mutées proportionnelle an temps écoulé entre les deux traitements. Cet espacement favoriserait la restitution des fragments au détriment des réarrangements ; de plus, les facteurs mis en cause par ces mutations seraient le plus souvent récessifs et mis à découvert par la perte des segments portant les facteurs dominants correspondants (« haploïdie partielle »).

SYBENGA (1963) interprète les mutations de décoloration de secteurs dans les premières feuilles de *Crotalaria* (matériel homozygote) par l'effet de cassures chromosomiques ditopiques, à la suite d'expériences analogues de fractionnement de doses de rayons X et gamma.

ZACHARIAS et EHRENBERG (1962) provoquent la formation de plages identiques chez le Soja par traitement aux neutrons, à l'oxyde d'éthylène, au diépoxybutane et par l'oxygène à pression élevée ; leur fréquence en fonction des doses appliquées est en accord avec les résultats obtenus par KAPLAN ; ils admettent comme lui l'origine chromosomique de ces mutations, mais pensent cependant qu'il peut s'agir aussi de cassures au niveau des chromatides (REVELL (1958-59), cité par ZACHARIAS) et de changements impossibles à observer au microscope. La disparition d'une assise, palissadique par exemple, peut être une autre cause des changements apparents de couleur foliaire (EHRENBERG et NYBOM, 1954, cités par ZACHARIAS). Il faut encore envisager en plus la possibilité d'un effet sur les proplastes des cellules embryonnaires, qui devrait s'extérioriser en fonction inverse de leur nombre.

Tous ces auteurs reconnaissent en outre la relation inversement proportionnelle entre le degré de développement d'un initium foliaire au moment du traitement et la grandeur relative des plages mutées.

Ainsi l'interprétation des réactions chlorophylliennes en M_1 après traitement mutagène n'est pas simple ni toujours bien définie quant à l'origine précise de la déficience.

D'autres auteurs ont plus spécialement étudié les réactions morphogénétiques au traitement mutagène.

Sur *Nicotiana rustica*, SANKEWITCH (1952) observe, après irradiation aux rayons X, le dédoublement d'organes, leur raccourcissement et leur asymétrie, le syncrétisme et la gaufrure des feuilles. La sortie des bourgeons axillaires et les anomalies phyllotaxiques sont fréquentes.

HACCIUS et REICHERT (1963) notent de fréquente dédoublements de la tige primaire chez *Nicotiana rustica* également, après irradiation des graines aux rayons X ; les cellules centrales du point végétatif sont probablement arrêtées dans leurs divisions ; des centres méristématiques nouveaux se forment à partir des zones proches qui sont à la base des deux premières feuilles.

Dans les observations préliminaires exposées ci-après, nous utiliserons les mutations chlorophylliennes somatiques apparues dès les premiers stades du développement des plantules traitées. Nous observerons la structure de l'épicotyle au moment du traitement, son évolution normale et les réactions morphogénétiques. Nous préciserons le rôle de ces trois facteurs sur la localisation et la morphologie des plages déficientes. Ainsi devrions-nous arriver à discerner dans quelle mesure la technique peut servir à la détection des caractéristiques de l'ontogénie apicale. Nous ne ferons que mentionner le problème de l'interprétation génétique des déficiences apparues.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les graines sèches de *Nicotiana tabacum* (var. *Samson* à $2n = 48$) et *Nicotiana glutinosa* ($2n = 24$) sont trempées pendant 24 heures dans une solution de méthane sulfonate d'éthyle (2 à 10 g/l) à pH fixé à 7,8 et enrichie en ions Cu^{++} (0,03 mg/100 cm³) ; ces conditions correspondent au maximum d'activité sur les chromosomes de *Vicia faba* (J. et M. MOUTSCHEN-DAHMEN, 1963).

L'évolution morphologique des plantules témoins et des plantules issues de graines traitées est suivie régulièrement jusqu'au 5e jour pour des graines semées en boîtes de Petri, sur papier-filtre mouillé ; l'évolution ultérieure, à partir du 5e jour, est suivie sur des plantes provenant de graines semées en terrines.

La structure et l'évolution des épicotyles, les réactions morphogénétiques des tissus méristématiques sont analysées sur coupes longitudinales et transversales sériées, après fixations diverses (CRAF, FAA), inclusion à la paraffine et coloration par l'hémalun de MAYER ou la safranine anilinée et le *fast green* (sol. alc. 5 p. 100). Les coupes transversales sont faites à 7 μ, les longitudinales à 5 ou 7 μ.

OBSERVATIONS

A — *Évolution normale de l'épicotyle au cours de la germination et des premiers développements*

1° *Nicotiana tabacum.*

Dans les graines qui viennent d'être soumises à un trempage de 24 heures dans l'eau ordinaire, l'épicotyle est réduit à une petite masse elliptique d'aspect à peu près constant, dont les axes mesurent environ 70 et 35 μ (photo 1) ; il comporte une vingtaine de cellules réparties en deux couches du type *tunica* dont les noyaux contrastent avec ceux des tissus cotylédonaires voisins : ils sont volumineux (diamètre de l'ordre de 7 à 10 μ pour ceux des tissus cotylédonaires). Les noyaux du centre de l'ellipse sont pourvus d'un réticulum chromatique assez peu dense, sur fond achromatique ; aux deux pôles, quatre à cinq noyaux sont légèrement plus petits (7,3 μ) et plus colorables (photo 1'). Sans être soumise à une règle très précise, la disposition relative des cellules de la couche superficielle paraît présenter une certaine symétrie suivant les deux axes de l'ellipse.

Après 48 heures, les mitoses ont commencé ; elles paraissent plus fréquentes vers les extrémités du grand axe, alors que les cellules centrales restent plus grandes, avec des noyaux plus volumineux (photo 2'). On perçoit maintenant une limite assez nette entre les zones polaires désormais initiatrices des feuilles et la mince zone axiale, correspondant au petit axe de l'ellipse primitive. Chacun des deux initiums en formation correspond aux descendants des 4 à 5 cellules polaires à noyaux plus petits observées après 24 heures.

Par la suite, cette zonation se conserve (photo 2) ; l'activité mitotique reste intense et affecte même le petit axe ; après 5 jours, les deux axes de l'ellipse mesurent environ 115 μ et 50 μ ; l'élongation dans le sens du grand axe a donc été d'environ 60 p. 100 depuis le début de la germination, contre 34 p. 100 seulement dans le sens du petit axe. Les territoires donnant naissance à F_1 et F_2 restent séparés par les cellules du petit axe, de telle sorte qu'ils sont sans filiation entre eux depuis au moins le

(1) F_1 : première feuille vraie.
f_1 : initium ou prémordium correspond.

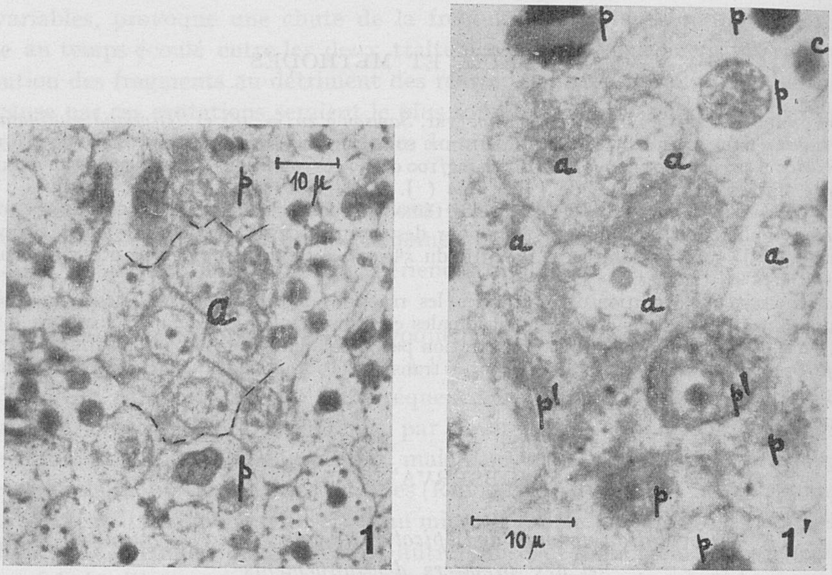


PHOTO 1 et 1'. — *Photos d'une coupe transversale (10 µ) au sommet de l'apex de graines de* Nicotiana tabacum *trempées 24 heures dans l'eau.*
Noyaux des pôles un peu plus petits et plus colorables que ceux des 4 cellules centrales (objectifs 40 et 100 fois)
(*p* = territoires ou noyaux polaires ; *a* = territoire ou noyaux apicaux).

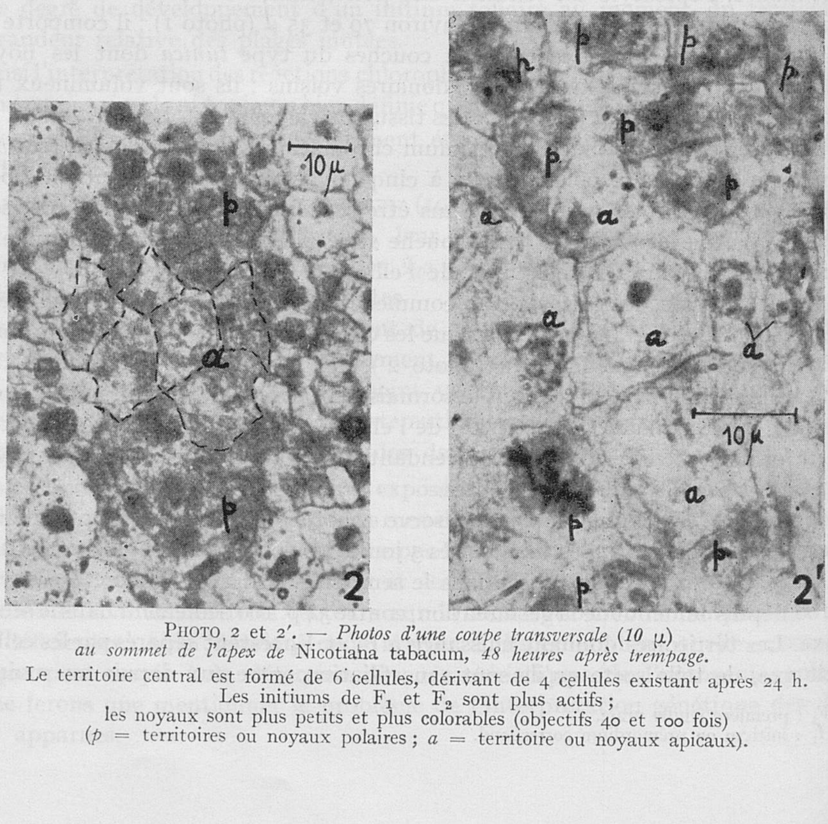


PHOTO 2 et 2'. — *Photos d'une coupe transversale (10 µ) au sommet de l'apex de* Nicotiana tabacum, *48 heures après trempage.*
Le territoire central est formé de 6 cellules, dérivant de 4 cellules existant après 24 h.
Les initiums de F_1 et F_2 sont plus actifs ;
les noyaux sont plus petits et plus colorables (objectifs 40 et 100 fois)
(*p* = territoires ou noyaux polaires ; *a* = territoire ou noyaux apicaux).

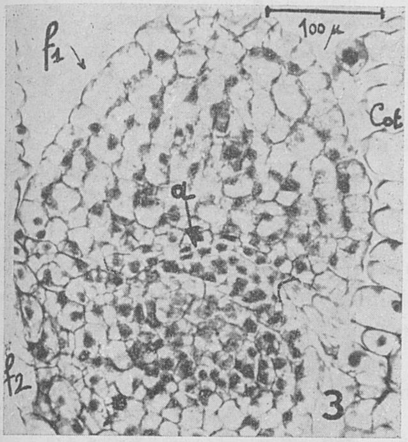


PHOTO 3. — *Coupe transversale dans l'épicotylaire d'une plantule de* Nicotiana tabacum *âgée de 13 jours*

On distingue les primordiums de F_1 et de F_2 séparés par un couloir apical de largeur réduite (*a*)

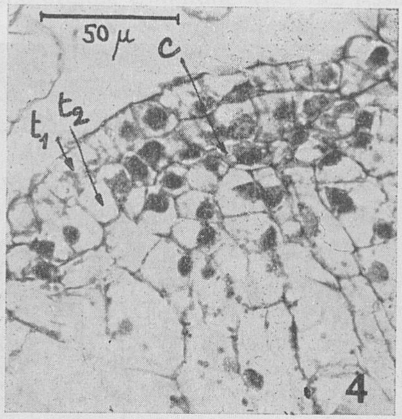


PHOTO 4. — *Coupe longitudinale axiale perpendiculaire au plan intercotylédonaire, du même âge, que figure 3*

C = « corpus » ; *t* = couche tunicale

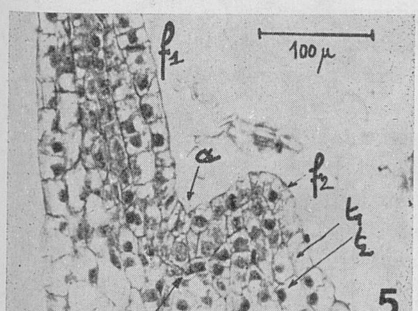


PHOTO 5. — *Coupe longitudinale axiale, parallèle au plan intercotylédonaire*

C = « corpus » ; *t* = couche tunicale

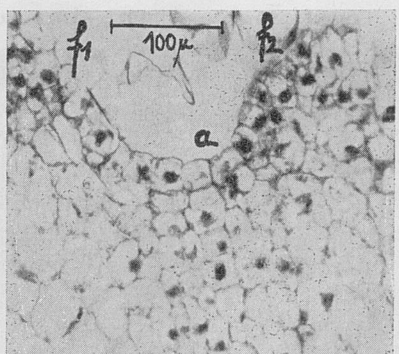
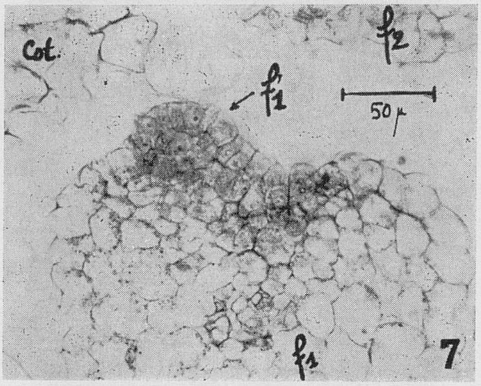


PHOTO 6. — *Coupe longitudinale axiale, parallèle au plan intercotylédonaire d'une plantule de* Nicotiana tabacum, *traitée à 2 g/l, après 13 jours*

Différenciation précoce des cellules méristématiques et arrêt de croissance.



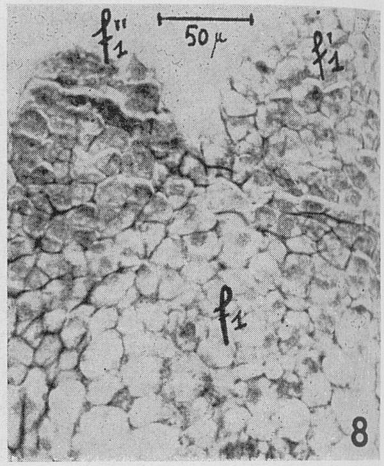
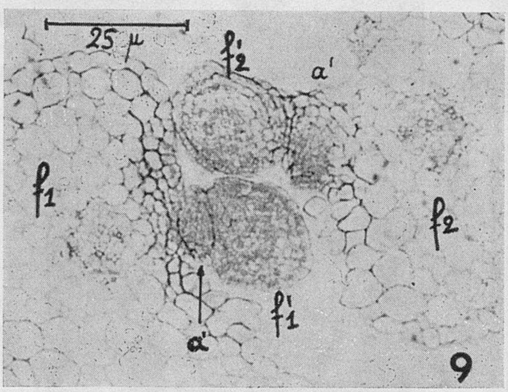


PHOTO 7. — *Coupe transversale d'une plantule de tabac 30 jours après traitement à 6 g/l.*
Néoformation de f'_1 sur f_1.

PHOTO 8. — *Coupe transversale d'une plantule de tabac 30 jours après traitement à 6 g/l.*
Néoformation de f'_1 et f''_1 sur f_1.



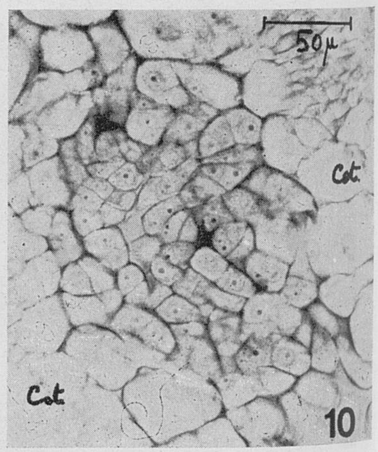


PHOTO 9. — *Coupe transversale d'une plantule de tabac 30 jours après traitement à 5 g/l.*
Néoformation de f'_1 sur f_1 et de f'_2 sur f_2.
Formation d'apex intercalaires entraînant le dédoublement de la tige.

PHOTO 10. — *Coupe transversale d'une plantule de tabac 30 jours après traitement à 10 g/l.*
Il y a formation d'un cal de cicatrisation entre les cotylédons.
La plantule ne fournira pas d'éléments d'une tige primaire et cessera toute activité.

stade embryonnaire caractérisant la graîne mûre ; cependant, il semble que des divisions parallèles au petit axe, dans les cellules matérialisant celui-ci, puissent parfois entraîner du matériel cellulaire axial vers un soubassement foliaire. Certaines lignées cellulaires de F_1 ou F_2 ont donc alors une origine commune avec des tissus qui appartiendront aux feuilles ultérieures.

Le soulèvement de F_1 et de F_2 commence vers le treizième jour avec une évolution légèrement plus rapide pour F_1. En même temps, ce qui était le petit axe au moment de la germination s'est allongé, devenant un sillon souvent courbe entre les deux feuilles. Sa largeur est passée de deux cellules à environ cinq (photo 3). Ces accroissements sont dus à des cloisonnements perpendiculaires et parallèles au petit axe. On y note en outre qu'à la tunica bisériée s'ajoute un corpus qui possède souvent une épaisseur d'une ou de deux cellules (photo 5). La photographie 4 correspond à une section longitudinale perpendiculaire au plan intercotylédonaire et montre l'aspect du jeune méristème résiduel en cours d'évolution entre F_1 et F_2. Par contre, ces cellules auront des descendants dans les deux feuilles suivantes et dans l'apex interposé. Ainsi aucune cellule de l'épicotyle primitif ne sera restée sans descendance après l'initiation des deux premières paires foliaires.

Au bout de vingt jours, F_3 puis F_4 seront à l'état de primordiums et d'ébauches, après trente jours, F_5 puis F_6 se constitueront ; on observera une nouvelle augmentation de la surface apicale.

2° *Nicotiana glutinosa.*

La structure de la masse épicotylaire est très semblable à celle décrite pour le *Nicotiana tabacum.* L'ensemble est réparti en deux couches comportant environ vingt-cinq cellules, dans la graine mûre ou après trempage de 24 heures. Il y a de douze à quinze cellules superficielles, soit un peu plus que dans la première espèce. On note ici encore des différences de taille entre les noyaux du centre et des pôles de l'ellipse par rapport aux noyaux des cellules cotylédonaires : 10 μ pour les noyaux du centre, 6 pour les noyaux des pôles, légèrement plus chromatiques, 3 μ seulement pour les noyaux des tissus cotylédonaires, colorés massivement.

Pour tout ce qui touche l'évolution de la masse épicotylaire après 48 heures, les caractéristiques essentielles sont les mêmes que chez *Nicotiana tabacum,* avec cependant, dès le couple F_1-F_2, de plus grandes différences dans le degré de développement relatif des feuilles successives.

B — *Réactions morphogénétiques au traitement des graines par le MSE*

Suivant les individus et surtout suivant les doses utilisées, la gradation des réactions morphogénétiques est la suivante, chez les deux espèces :

1° La réaction en relation avec des doses faibles de MSE (1 à 4 g/l) est habituellement un simple ralentissement du fonctionnement épicotylaire, avant la constitution des deux premières feuilles. La forme de celles-ci est très affectée. Le limbe est toujours lancéolé ; son bord est souvent irrégulier, comme découpé. Parfois, la moitié du limbe manque ; la feuille est donc dissymétrique, avec la nervure prin-

cipale décentrée (dessins 1 à 4). Par contre, après cette phase initiale de ralentissement, l'évolution ultérieure redeviendra normale et la forme des feuilles F_3, F_4, etc. est rarement affectée. La phyllotaxie reste normale sur une tige primaire également normale.

L'examen de l'aspect du méristème épicotylaire confirme ces faits. A 20 jours, par exemple, l'ellipse méristématique comprend les primordiums de F_1 et F_2, séparés par un sillon étroit et encore peu actif, rappelant ce qu'on observe chez des plantules témoins vers le dixième jour.

2° Aux doses moyennes (4 à 6 g/l), les réactions sont plus variées et souvent plus importantes ; si certaines plantules se comportent encore comme précédemment, d'autres ajoutent aux anomalies morphologiques des feuilles F_1 et F_2 des troubles phyllotaxiques, des dédoublements apparents de la tige primaire ou la constitution de nouvelles tigelles latérales. Jusqu'aux doses moyennes, F_1 et F_2 se développent plus ou moins rapidement. Elles peuvent cependant être réduites à la nervure principale, sans limbe constitué. Par contre, les cellules apicales interposées perdent toute activité mitotique, subissent une différenciation précoce, sans présenter habituellement de nécroses (photo 6) ; parallèlement un ou deux sites d'activité de recloisonnement se constituent sur la base interne de F_1 ou de F_2 (photo 7 et 8). Il ne s'agit pas vraiment de l'apparition de bourgeons axillaires parce que le méristème néoformé ne correspond pas au plan médian de la feuille. En effet, son orientation par rapport à l'aisselle foliaire est différente de celle des bourgeons axillaires normaux chez les deux espèces de *Nicotiana*. De même, la position des premières feuilles ne rappelle pas celle des préfeuilles des bourgeons axillaires. Il s'agit donc bien de méristèmes latéraux néoformés qui engendrent d'abord une première feuille ; c'est ainsi que lorsque deux méristèmes se forment contre F_1 ou F_2, il apparaît deux feuilles nouvelles F'_1 et F'_2 (photo 9) puis deux méristèmes caulinaires nouveaux entre F_1 et F'_1, F_2 et F'_2. Ceci explique les cas nombreux de tiges apparemment dédoublées en deux axes égaux ou subégaux. En réalité, il n'y a pas de tige primaire dédoublée.

Parfois dans l'ellipse épicotylaire, l'arrêt de croissance frappe tout ce qui n'est pas la surface d'initiation de F_1 ; il y a dès lors néoformation d'une nouvelle pousse à partir de la zone basale abaxiale de F_1 ; les feuilles F'_1, F'_2 qui en naîtront n'auront pas la même disposition que F_2 et F_3. Une phyllotaxie normale apparaîtra ultérieurement. Les dessins 8, 9, 11 et 12 illustrent un phénomène analogue sur F_3 et F_4.

3° Aux doses élevées (au-dessus de 6 g/l), quelques plantules arrivent à former plusieurs feuilles, qui présentent très régulièrement l'une ou l'autre des anomalies décrites plus haut mais la majorité des graines n'auront plus d'évolution au-delà de la sortie des cotylédons. Des doses de 8 à 10 g/l deviennent donc pratiquement létales (*Nicotiana glutinosa* paraît un peu plus résistant que *Nicotiana tabacum*). L'examen au microscope de la surface épicotylaire montre que celle-ci reste totalement inactivée, ou bien que certaines mitoses plus ou moins anarchiques se produisent, donnant à la surface l'allure d'un cal de cicatrisation (photo 10).

En résumé, le traitement peut soit affecter la vitesse initiale de l'évolution méristématique, soit provoquer des réactions morphogénétiques, qui se traduisent par des modifications de forme des deux premières feuilles ou des néoformations

de bourgeons à partir des bases foliaires. Ceux-ci fournissent une pousse ou deux en supplément de la tigelle primaire, ou remplacent totalement celle-ci. Enfin, l'effet peut être beaucoup plus intense et s'accompagne de la mort de la plantule après la sortie des cotylédons. Dans tous les cas, l'activité mitotique des cellules du petit axe de l'ellipse est stoppée, temporairement ou définitivement.

C — *Réactions mutationnelles*

Rien de perceptible n'apparaît au niveau des cotylédons déployés, si ce n'est une éventuelle altération générale lorsque les graines ont été soumises à de fortes doses de MSE. Par contre, il apparaît fréquemment des *plages homogènes de déficience sur une ou plusieurs des quatre premières feuilles. Aucune plage de déficience chlorophyllienne comparable aux précédentes n'apparaît pour la première fois à partir de la cinquième feuille* ; cependant, à n'importe quel moment de la croissance ultérieure, d'autres déficiences peuvent se manifester sous forme de panachure.

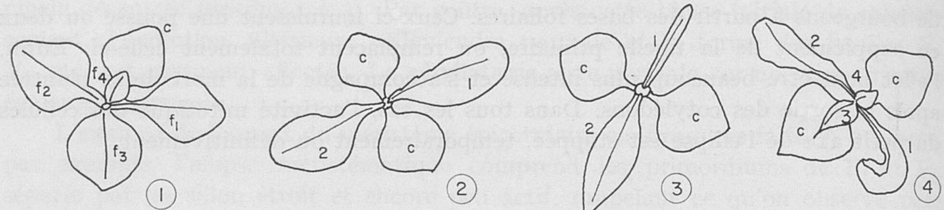
Concentration en MSE (g/l)	0	2	4	6	8	10
Fréquence de $F_1 + F_2$ en chimère (pour 1 000 plantes)						
Nicotiana glutinosa...........	0	17	41	55	20	24
Nicotiana tabacum	0	2	12	3	0	0

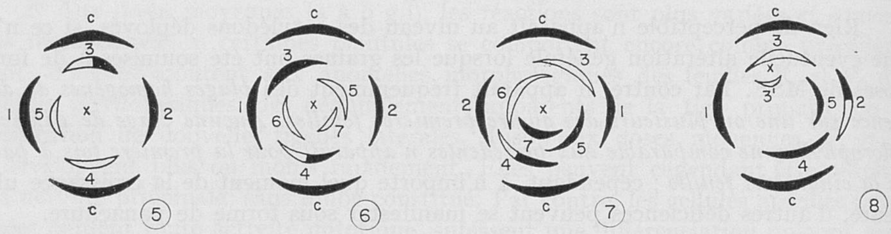
La fréquence d'apparition des plages plus ou moins décolorées est très différente chez les deux espèces ; elle est beaucoup plus élevée chez *Nicotiana glutinosa*, comme l'indique le tabeau ci-dessus ; mais cette fréquence ne paraît pas liée de façon linéaire à la concentration de la solution mutagène. Elle dépend aussi de l'accroissement du nombre de feuilles F_1 et F_2 atrophiées, éliminant ainsi la possibilité de manifestations extérieures d'une déficience dans un nombre de cas de plus en plus élevé.

Le degré de déficience chlorophyllienne est variable, allant d'une légère atténuation de la coloration par rapport aux portions apparemment normales jusqu'à l'absence totale de pigment (plages *albina*).

Les plages déficientes en F_1 et F_2 sont latérales ou distales, plus rarement centrales ; elles n'occupent au maximum que le quart et le tiers de la feuille (dessin 13). Ces plages ne se retrouvent qu'exceptionnellement sur des feuilles suivantes. Elles s'arrêtent donc à la base de la feuille touchée (dessin 11). Toutefois, pour de fortes concentrations en MSE, il arrive que F_1, F_2 et l'apex interposé soient totalement déficients.

Les feuilles F_3 ou F_4 qui sont touchées par une mutation ont des plages déficientes allant du *tiers jusqu'à la totalité* de la surface limbaire (dessin 14). Très généralement, les plages affectant F_3 ou F_4 apparaissent *de novo* et n'ont pas de répondant dans les deux premières feuilles. On ne compte que des cas très rares où le secteur muté intéresse à la fois F_1 et F_2 ou F_2 et F_4.





DESSIN 1 : Plantule témoin montrant un cotylédon, l'autre étant caché, et les feuilles F_1, F_2, F_3 et F_4 (*Nicotiana tabacum,* 33 jours après trempage).

DESSIN 2 : Plantule traitée à 6 g/l ; F_1 et F_2 sont altérées (*Nicotiana tabacum,* 33 jours après trempage).

DESSIN 3 : *Nicotiana tabacum* ; Plantule traitée à 6 g/l ; F_1 est réduite à un moignon.

DESSIN 4 : *Nicotiana tabacum* ; Plantule traitée à 4 g/l ; F_1 et F_2 sont très déformées mais F_1 et F_2 apparaissent normales.

DESSIN 5 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l. Phyllotaxie normale ; déficience apparue sur F_3, en secteur occupant la moitié du limbe, et se perpétuant sur F_4 et F_5 entières (en blanc).

DESSIN 6 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l. Phyllotaxie normale ; déficience apparue sur F_4 et perpétuée dans tout l'apex.

DESSIN 7 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l. Phyllotaxie normale, déficience apparue sur F_3 et en partie sur F_4, se propageant en secteur.

DESSIN 8 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l. Phyllotaxie normale jusqu'en F_5. Néoformation d'une F_3 emportant la déficience apparue sur F_3.

Par contre, quand une plage mutée apparaît sur F_3 ou F_4, elle se retrouve automatiquement sur des feuilles ultérieures (dessins 5, 6, 7 et 10).

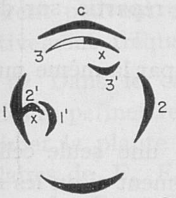
Quand un bourgeon latéral apparaît et évolue à partir de l'aisselle de l'une des quatre premières feuilles, il manifeste une déficience partielle ou totale en relation avec une déficience extériorisée sur la feuille axillante (dessins 8, 9 et 12).

Des feuilles à secteurs déficients ont fait l'objet d'observations histo- et cytologiques, après fixation au Carnoy et coloration à l'hématoxyline ferrique. Ce fixateur à l'alcool altère les plastes déficients qui ont un pouvoir réducteur moins élevé. Dans ces conditions, il apparaît que les déficiences intéressent soit toute l'épaisseur du limbe, soit une seule couche ; trois causes différentes peuvent produire des effets de déficience.

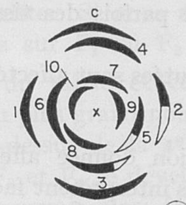
a) la diminution de la teneur en chlorophylle des plastes en relations avec leur infrastructure.

b) la disparition ou l'altération du parenchyme palissadique.

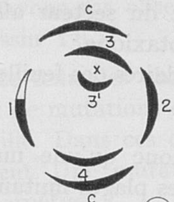
c) la diminution du nombre de plastes par cellule, sans diminution apparente de la quantité de chlorophylle par organite.



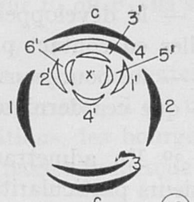
(9)



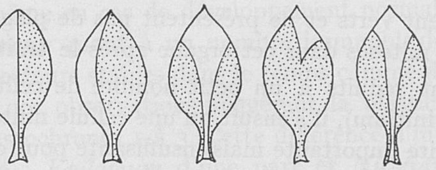
(10)



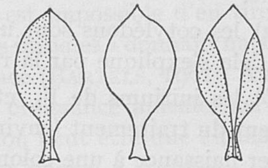
(11)



(12)



(13)



(14)

DESSIN 9 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l.
Néoformation sur F_3 de F'_3 du côté non déficient et de F'_1 sur F_1.
Plantule en voie de dédoublement de la tige.

DESSIN 10 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l.
Phyllotaxie normale, déficience apparue sur F_2 et F_3, se propageant en secteur qui est éliminé après F_5.

DESSIN 11 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l.
Déficience apparue sur F_1 et sans répondant ultérieur.
Néoformation de F'_3 sur F_3.

DESSIN 12 : Diagramme ; *Nicotiana glutinosa* traité à 6 g/l.
Déficience apparue sur F_4. Sortie d'un rameau axillaire à deux préfeuilles normales F'_1 et F'_2, emportant la déficience.

DESSIN 13 : Cinq types de secteurs déficients (en blanc) observés sur F_1 et F_2.

DESSIN 14 : Trois types de secteurs observés sur F_3 et F_4.

DISCUSSION

1° En comparant les effets morphogénétiques des épicotyles de *Nicotiana tabacum* et *Nicotiana glutinosa* après le traitement au MSE avec celles décrites par SANKEWITCH (1952), HACCIUS et REICHERT (1963) sur les plantules de *Nicotiana rustica* après irradiation aux rayons X, nous constatons que beaucoup de réactions se ressemblent : asymétrie foliaire et arrêt évolutif des cellules centrales du point végétatif entre les ébauches des deux premières feuilles. Ce dernier phénomène entraîne soit la sortie de rameaux axillaires, soit la néoformation des feuilles ultérieures, à la base de F_1 ou F_2. On aboutit ainsi à des anomalies phyllotaxiques et à la formation de tiges apparemment dédoublées.

2° L'apparition de plages déficientes homogènes, depuis F_1 jusqu'à F_4 est l'indice qu'une mutation a intéressé une cellule et s'est transmise à sa descendance somatique. *Deux faits confirment ce point de vue* :

— le développement du secteur affecte parfois des tissus répartis sur deux feuilles en contact phyllotaxique ;

— les bourgeons axillaires des feuilles mutées sont affectées par la même mutation que ces dernières.

3° En admettant donc qu'une mutation donnée affecte une seule cellule, plusieurs particularités des plages mutantes s'interprètent facilement si on les relie à l'évolution ontogénique normale de l'embryon au cours de la germination et des premiers développements de la plantule, c'est-à-dire en l'absence de réorganisation apicale.

a) les cotylédons sont unifornément verts et ne présentent pas de plages visibles. Cela s'explique par la rareté des mitoses dans cet organe après le traitement.

b) les initiums de F_1 et F_2 étant réduits à un petit nombre de cellules au moment du traitement (environ 5 par initium), il s'ensuit qu'une cellule mutée peut donner naissance à une colonie cellulaire importante mais insuffisante pour occuper la feuille entière.

De plus, ces deux premières feuilles ne sont jamais porteuses de la même mutation, n'ayant pas de territoire commun dans l'ellipse embryonnaire (photos 1 et 2).

c) Si une mutation apparue au niveau de F_1 ou F_2 a très peu de chances d'être transmise aux feuilles suivantes, c'est qu'il existe, nous l'avons vu, une quasi-indépendance des cellules du petit axe de l'ellipse vis-à-vis des deux pôles générateurs de F_1 et F_2. Ces cas très rares de secteur englobant F_1 et F_3 sont dus à une filiation commune de certaines cellules de ces deux feuilles. Nous avons en effet observé qu'il y a parfois dans les cellules du petit axe, une division parallèle à celui-ci, qui amène des cellules de même ascendance dans deux feuilles contiguës.

d) Les initiums de F_3 et F_4 et l'apex interposé proviennent au maximum de 3 à 4 cellules communes dans l'embryon, ce qui permet de comprendre que F_3 ou F_4 puissent être dans certains cas totalement mutées. Pour la même raison, les mutations apparues au niveau de F_3 ou F_4 se retrouvent généralement sur les feuilles suivantes.

4° Dans le paragraphe précédent, nous avons étudié les phénomènes qui pouvaient s'interpréter par l'organogenèse normale après mutation d'une seule cellule. D'autres sont inexplicables de cette façon. Ils peuvent être mis en relation avec les réactions morphogénétiques consécutives au traitement par le MSE, sans nécessiter l'hypothèse de mutations à phénotype identique dans plusieurs cellules.

a) L'extension de la même plage mutée sur F_1, F_3 et F_4 et la totalité d'une pousse correspond au développement d'un bourgeon néoformé sur la base de F_1. Celui-ci remplace l'axe primaire ; il s'agit donc en réalité des feuilles F'_1, F_2', F'_3 etc.

b) L'apparition exceptionnelle de la même plage à la fois sur la première et deuxième feuille est due à un phénomène analogue mais plus précoce au cours du développement. Le territoire épicotylaire n'engendre plus F_2, F_3 etc. mais un bourgeon de néoformation sur F_1, qui construit les feuilles F'_1, F'_2, etc.

5° Chaque secteur muté de même phénotype peut donc s'expliquer par une origine unicellulaire. Pour un même axe épicotylé, des secteurs mutés de phénotype

différent peuvent coexister. Si nous n'en avons pas observé sur F_3 ou F_4, ils sont relativement fréquents sur F_1 ou F_2 (dessin 13C).

6° Dans le cas du tabac et compte tenu des observations précédentes, si on désire permettre au plus grand nombre de mutations de s'exprimer, il est utile d'écîmer la plante au-dessus de la 4^e^ feuille. Dans ces conditions, les bourgeons axillaires de F_1, F_2, F_3 et F_4 se développent. Une mutation passée inaperçue au niveau de F_1 et F_2 pourrait ainsi être perpétuée.

7° Le mode d'apparition des plages mutées est en relation avec le nombre de cellules des territoires correspondants au moment où la mutation se produit ; mais même en cas de développement normal, il nous est impossible d'en tirer des conclusions quant à un nombre immuable de « cellules initiales » donnant naissance à des secteurs stables dans le temps comme dans l'espace (BARTELS, 1961). Au contraire, nos observations suggèrent la plasticité de la croissance apicale, au cours des plastochrones 1 à 3. Cette différence d'interprétation peut être due au matériel observé : *Epilobium* d'une part et *Nicotiana* d'autre part.

8° Ce que GAUL (1959) appelle compétition intercellulaire, ou « sélection diplontique » semble limité dans notre cas aux néoformations de feuilles et d'apex qui font suite à un arrêt de croissance des cellules les plus méristématiques. De plus, la réaction morphologique se termine dès que les territoires perturbés ont été remplacés par d'autres.

Il nous est encore impossible de savoir si le blocage des cellules méristématiques est dû à l'effet toxique du traitement ou à son effet génétique (aberrations chromosomiques).

Étant donné l'importance des réactions morphogénétiques, il nous est difficile d'attacher la même importance que GAUL à la notion d'initiales : s'il y a compétition, elle joue, compte tenu de la dose, entre cellules voisines d'un même méristème ou entre territoires voisins et au cours des premiers plastochrones. L'individualisation ultérieure d'une colonie mutée ne paraît être compromise par la prolifération du tissu normal que dans des cas bien particuliers de mutations, affectant le pouvoir de multiplication cellulaire.

9° Quant à l'interprétation génétique de ces mutants, il nous est encore impossible de choisir entre les hypothèses avancées par d'autres auteurs et résumées dans la partie introductive : mutations chromosomiques ou effets extranucléaires. Dans nos travaux ultérieurs, nous essaierons d'éclaircir ce problème.

Reçu pour publication en octobre 1965.

SUMMARY

MORPHOLOGICAL REACTIONS OF THE PLANTLETS OF « NICOTIANA TABACUM » L. AND OF « NICOTIANA GLUTINOSA » L. TO TREATMENT OF SEEDS WITH ETHYL METHANESULFONATE. CONSEQUENCES ON THE APPEARANCE OF SOMATIC CHLOROPHYLL MUTATIONS.

After treating seeds of *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana glutinosa* with aqueous solutions o ethyl methanesulfonate (2 to 10 g/l), we observed two kinds of chlorophyll mutations in plants deriving from treated seeds (M I). One is stable and homogeneous, and of forward development

(fig. 13 and 14), the other being found in variegated form and generally appearing later :

We have conducted a comparative analysis of the morphogenesis of the treated plantlets and untreated controls.

The sectors showing localized homogeneous mutations of the first type may be connected with the epicotylary elliptical structure at the moment of treatment (photos 1 and 1[1], 2 and 2′), with the normal morphogenesis of the plantlet (photos 3, 4 and 5) and with morphogenetic disturbances due to the ethyl methanesulfonate (photos 6 to 10, fig. 1 to 12).

In both species, it was found that all the epicotylary cells existing at the time of treatment transfer their mutated character to the daughter cells before the formation of the fifth leaf (fig. 5 to12). The discussion deals with the consequences of this phenomenon.

Further investigations will deal with the second type of mutation and will, in particular, seek an explanation of the genetic origin of these two types of mutations.

ZUSAMMENFASSUNG

MORPHOLOGISCHE REAKTIONEN VON KEIMPFLANZEN VON « NICOTIANA TABACUM » L. UND VON « NICOTIANA GLUTINOSA » L. BEI BEHANDLUNG DER SAMEN MIT METHAN-ÄTHYLSULFONAT. EINWIRKUNGEN AUF DAS AUFTRETEN VON SOMATISCHEN BLATTFARBMUTATIONEN.

Nach Behandlung von Samen von *Nicotiana Tabacum* und von *Nicotiana glutinosa* mit wässerigen Lösungen von Methan-Äthylsulfonat (2 *bis* 10 g/l), wurden zwei Sorten von Blattfarbmutationen an den mit dem behandelten Samen erzeugten Pflanzen (MI) beobachtet. Die eine ist dauerhaft und homogen, frühzeitig auftretend (s. Zeichnungen 13 und 14), die andere zeigt sich in Form von geschekte Blättern, die im allgemeinen später auftreten.

Die Morphogenesis der behandelten Pflanzen wurde untersucht und mit der Morphogenesis der standardpflanzen verglichen.

Die Lokalisierungssektoren der homogenen Mutationen des ersten Typus können der Struktur der Epikotylarellipse im Augenblick der Behandlung (photos 1 und 1′, 2 und 2′), der normalen Morphogenesis des Setzlings (photos 3, 4 und 5) und den durch MES verursachten morphogenetischen Störungen (photos 3, 4 und 5) (Zeichnungen 1 bis 12), zugeordnet werden.

Bei den beiden Pflanzenarten hat es sich gezeigt, dass die gesamten im Augenblick der Behandlung vorhandenen epikotilaren Zellen ihre mutierten Merkmale in ihre Tochterzellen vor der Bildung des fünften Blattes (Zeichnungen 5 bis 12) überführen. Die Konsequenzen dieses Phänomens werden erörtert.

Der zweite Mutationstypus wird in den späteren Arbeiten untersucht. In erster Linie, wird man sich bemühen, die genetische Abstammung dieser zwei Phänotypen zu erklären.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BARTELS F., 1961. Zur Entwicklung der Keimpflanze von *Epilobium hirstutum*. IV. Der Nachweis eines Scheitelzellenwachstums. *Flora*, **150**, 552-571.

GAUL H., 1959. Über die Chimärenbildung in Gerstenpflanzen nach Röntgenbestrahlung von Samen. *Flora*, **147**, 207-241.

HACCIUS B., REICHERT H., 1963. Restitutionserscheinungen an pflanzichen meristemen nach Röntgenbestrahlungen. I. Die Genese strahleninduzierter Sprossgabelungen. *Planta*, **60**, 289-306.

HESLOT H., FERRARY R., LEVY R., MONARD C., 1959. Recherches sur les substances mutagènes (halogéno.-2 éthyle) amines, dérivés oxygénés du sulfure de *bis*. (chloro-2 éthyle) esters sulfoniques et sulfuriques. *C. R. Acad. Sci.* **248**, 729-732.

KAPLAN R. W., 1954. Beinflussung des durch Röntgenstrahlen induzierten mutativen Fleckenmosaiks auf den Blättern der Sojabohne durch Zusatzbehandlung. *Strahlentherapie*, **94**, 1 ; 106-118.

MOUSCHEN-DAHMEN J. et M., 1963. Interactions ioniques dans les effets radiomimétiques du méthane sulfonate d'éthyle sur les chromosomes de *Vicia faba*. *Radiation. Bot.*, **3**, n° 4, 297-210.

SANKEWITSCH E., 1952. Untersuchungen von Röntgenmorphosen bei *Nicotiana rustica* L. *Beitr. Biol. Pflanz.*, **29**, 1-74.

SYBENGA J., 1964. Quantitative analysis of radiation-induced sectorial discoloration of the first leaf of *Crotalaria intermedia*. *Radiation. Bot.*, **4**, 125-139.

ZACHARIAS M., EHRENBERG L., 1962. Induction of leaf spots in leguminous plants by nucleotoxic agents. I., *Hereditas*, **48**, 284-306.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 373-404.

LA SÉLECTION DE PORTE-GREFFES DU POIRIER DANS LES POPULATIONS NATURELLES DE COGNASSIER

II. — SÉLECTION DE COGNASSIERS PORTE-GREFFES DU POIRIER

J. BROSSIER

Station de Recherches d'Arboriculture fruitière, Angers (Maine-et-Loire)

SOMMAIRE

La sélection de porte-greffes du Poirier a été entreprise dans une population de cognassiers comprenant environ deux cents clones. Ceux-ci provenaient surtout de prospections effectuées dans le sud-est et le sud-ouest de la France.

Les objectifs poursuivis ont été l'obtention de clones possédant : une bonne aptitude à la multiplication végétative, pour les cognassiers de Provence ; une bonne affinité avec les variétés de Poirier et une bonne adaptation aux différents milieux. Enfin, une gamme de vigueur était recherchée.

En pépinières de multiplication, des clones de cognassiers de Provence ont montré une aptitude au marcottage supérieure à celle du A d'East Malling (qui est un cognassier d'Angers). En vergers, aucun clone de cognassiers d'Angers n'a été supérieur au A d'East Malling ; par contre, plusieurs clones de cognassiers de Provence se sont révélés plus intéressants que les souches de cognassiers actuellement utilisées.

INTRODUCTION

Dans un rapport précédent (1), nous avons vu l'importance des cognassiers comme porte-greffes du Poirier et la diversité morphologique des populations de cognassiers d'Angers, de Provence et de plusieurs autres groupes. Dans ce second mémoire seront exposés les résultats actuels des travaux de sélection entrepris dans cette espèce depuis 1949 à la Station d'Angers.

A partir de 1914, les cognassiers utilisés dans le commerce, pour la plupart des cognassiers d'Angers, furent étudiés à la Station anglaise d'East Malling. A cette époque, les cognassiers de Provence n'étaient pas encore connus et ce n'est qu'en 1948 que TYDEMAN en donna une description. Les travaux entrepris en 1914 permirent à HATTON de classer les cognassiers étudiés en sept types appelés : A, B,

(1) *Ann. Amélior. Plantes*, **15** (3), 263-326.

C, D, E, F et G. Seuls les trois premiers sont utilisés comme porte-greffes dont le type A (qui est un cognassier d'Angers) est le meilleur.

Cependant, malgré ses qualités, le A d'East Malling ne convient pas à certaines variétés de Poirier qui présentent une affinité ou une vigueur insuffisantes sur ce porte-greffe. De plus, il est parfois mal adapté à certaines conditions de milieu (comme dans le midi de la France).

C'est pourquoi un travail de sélection fut entrepris à la Station de Recherches d'Angers dans les populations de cognassiers de Provence et également dans celles que nous avons mises en évidence au cours de l'étude botanique des souches rassemblées en collection. Les clones de cognassiers d'Angers que nous possédions furent aussi observés et le cognassier A d'East Malling fut adopté comme témoin dans ce travail.

Les objectifs de cette sélection ont été l'obtention de clones possédant :

— une bonne aptitude à la multiplication végétative, les cognassiers de Provence du commerce se multipliant mal en comparaison des cognassiers d'Angers ;

— une bonne affinité avec les variétés de Poirier ;

— une bonne adaptation aux différents milieux.

Notre but était aussi de sélectionner des clones de vigueurs différentes et, en particulier, de rechercher des cognassiers plus vigoureux. La gamme de vigueur des porte-greffes du Poirier est en effet très incomplète. Elle se réduit aux cognassiers porte-greffes nanifiants et aux francs de Poirier, porte-greffes très vigoureux.

Pour effectuer cette sélection, les critères suivants ont été adoptés :

— l'aptitude des clones au bouturage et au marcottage ;

— le pourcentage de reprise des écussons, la vigueur des scions obtenus et l'observation anatomique du point de greffe ;

— le comportement en vergers, jugé d'après la vigueur et la production des principales variétés de Poirier greffées sur les clones estimés les meilleurs d'après les critères précédents ;

— l'absence de maladies à virus.

APTITUDE AU BOUTURAGE ET AU MARCOTTAGE

Bouturage

Méthodes expérimentales et matériel utilisé

Les boutures furent prélevées sur des haies de cognassiers établies dans ce but. En effet, il a été démontré que les résultats obtenus avec des boutures de *Myrobolan* (Garner, 1944) prélevées sur des haies étaient supérieurs à ceux obtenus avec des boutures provenant de sujets jeunes. Afin de vérifier s'il en était de même avec le Cognassier, deux essais furent effectués en 1955. Les boutures de onze clones furent prélevées sur des haies et sur des marcottes repiquées âgées d'un an. Un essai fut établi avec des boutures à talon et un autre avec des boutures sans talon. Le dispositif de chaque essai était un *split-plot*. Dans les deux essais, l'origine des boutures a eu un effet très significatif sur le pourcentage de reprise mais n'en a eu aucun sur le classement des clones (tabl. 1 et 2).

Par la suite, dans tous les essais, les boutures furent prélevées au cours de la deuxième quinzaine du mois de décembre ou au début du mois de janvier. Ce furent toujours des boutures sans talon, de 30 centimètres de longueur et calibrées entre 6 et 9 mm. Après leur préparation, elles étaient

mises en stratification dans un mélange sable et terreau dans une cave dont la température était environ de + 10°C. Leur mise en place était effectuée au cours du mois de février ou du mois de mars.

Les essais furent répétés pendant quatre ans, de 1958 à 1961. Le dispositif adopté ne fut pas le même tous les ans. En 1958 et 1959, les essais furent des lattice-carrés 7 × 7 avec 25 boutures par parcelle élémentaire. Ce dispositif permet la comparaison de nombreux clones avec un minimum de répétitions. Par contre, en 1960 et 1961, ayant beaucoup moins de clones à comparer et disposant d'un plus grand nombre de boutures par clone, la méthode des blocs fut utilisée.

TABLEAU 1

Pourcentages moyens de reprise des boutures d'après leurs origines de prélèvement

	Boutures prélevées sur des		F calculé	F de la table (P = 0,05)
	haies (%)	sujets d'un an (%)		
Boutures à talon	85,5	52,6	61,8	4,08
Boutures sans talon.....	47,7	27,4	91,7	4,08

TABLEAU 2

Interaction origine × clones

	F calculé	F table (P = 0,05)
Boutures à talon	1,1	1,9
Boutures sans talon	0,9	1,9

Dans ces essais, 137 clones furent mis en comparaison. Ils se répartissent en :

cognassiers d'Angers.. 23 clones
cognassiers de Provence....... 95 clones
cognassiers d'origines diverses.. 19 clones

Ces 19 clones sont de six origines différentes :

— groupe III : de Palestine. Ce groupe de 7 clones a les caractéristiques botaniques des cognassiers d'Angers ;

— groupe IV : d'Italie. Ce groupe de 4 clones a les caractéristiques botaniques des cognassiers de Provence ;

— groupe V : clone C d'East Malling ;

— groupe VII : de Portugal. Un seul clone qui ne ressemble pas au cognassier de Portugal, clone E d'East Malling et qui ne se rattache ni au groupe des cognassiers d'Angers ni à celui des cognassiers de Provence ;

— groupe XI : de Palestine. Trois clones très différents de ceux cités plus haut et formant un groupe bien caractérisé.

— groupe XIII : trois clones formant un groupe caractérisé par des arbustes petits à feuilles ondes et petites, aux entre-nœuds très courts et par de nombreuses ramifications.

Résultats

Essais de l'année 1958.

Cinq essais, lattice-carrés 7 × 7, furent mis en place côte à côte sur une parcelle suffisamment homogène pour que l'on puisse considérer les conditions comme identiques. Afin de pouvoir comparer entre eux les résultats des différents essais, plusieurs clones furent placés comme témoins.

L'analyse de la variance de chacun de ces cinq essais a montré pour chacun d'eux :

effet bloc non significatif ;
effet clones nettement significatif.

D'autre part, l'analyse de la variance des clones témoins a montré qu'il n'y avait pas d'interaction clones × essais. Les données de tous ces essais peuvent donc être comparées (les analyses ont été effectuées sur les valeurs obtenues, transformées en valeurs correspondantes de $\sin^2 \Theta$, d'après la relation de Bliss :

$$\Theta = \text{arc} \sin^2 \sqrt{\text{pourcentage}}.$$

Essais de l'année 1959.

Les clones mis en essais en 1959 furent les mêmes qu'en 1958 à l'exception de huit d'entre eux. Au cours de cette saison, 139 clones furent donc mis en comparaison en cinq essais numérotés de 1 à 5. Les essais 1 et 2 étaient des lattice-carrés 7 × 7 et les essais 2, 4 et 5 étaient des blocs. Ces derniers avaient six répétitions et avaient respectivement en comparaison 11 clones, 22 clones et 22 clones.

Comme pour les essais de 1958, plusieurs clones furent placés comme témoins dans les cinq essais. L'effet clones fut nettement significatif. L'analyse de variance des clones témoins a montré qu'il n'y avait pas d'interaction clones × essais.

Comparaison des résultats obtenus en 1958 et 1959.

Les résultats obtenus en 1959 montrent que le pourcentage de reprise des boutures a été moins élevé qu'en 1958 :

pourcentage moyen des cinq essais de 1958 : 79 p. 100 ;
pourcentage moyen des cinq essais de 1959 : 21 p. 100.

Il semble bien que la cause principale de cette différence soit la date de mise en place des boutures, les conditions de préparation du matériel ayant été les mêmes. Pour des raisons d'ordre climatique en 1959, la mise en place des boutures fut effectuée les 2 et 3 avril alors qu'en 1958 elle eut lieu les 5 et 6 février. Cette avance de deux mois en 1958 a permis aux boutures de constituer un système radiculaire suffisant pour subir les conditions climatiques du mois d'avril qui, en 1958 et 1959, ont été caractérisées par des écarts élevés de température entres la nuit et le jour et surtout par une pluviométrie très basse. En 1958, le système radiculaire établi a évité aux boutures une trop grande dessiccation.

L'analyse d'ensemble des deux années a montré :

— effet principal clones nettement significatif

F calculé : 15,1
F table pour P = 0,05 = 1,22

— interaction années × clones significative

F calculé : 2,6
F table pour P = 0,05 = 1,22.

Essais de l'année 1960.

Quatre-vingt-trois clones furent répartis en six essais conduits selon la méthode des blocs. Chaque essai comportait six blocs et chaque parcelle élémentaire 25 boutures. 12 à 16 clones étaient en comparaison dans chacun. Enfin, plusieurs clones étaient communs aux six essais pour servir de témoins.

Dans tous les essais l'effet clone fut très significatif et il n'y eut pas d'interaction essais × clones.

Le degré moyen de reprise de tous les clones étudiés fut de 30,8 p. 100. Ce résultat est du même ordre de grandeur que celui obtenu en 1959. Les classements établis en 1959 et en 1960 se révèlent identiques. Les conditions des deux années étaient identiques en particulier pour la date de mise en place des essais (au début du mois d'avril dans les deux cas).

Classement des clones après les essais de 1958, 1959, 1960.

L'analyse d'ensemble des trois années a montré :

— effet principal clone nettement significatif

F calculé = 28,4
F table = 1,2 pour P = 0,05

— interaction années × clones significative

F calculé = 3,8
F table = 1,2 pour P = 0,05.

Les clones n'ont donc pas réagi de la même façon aux conditions différentes des années, mais sur l'ensemble des trois années cette interaction n'a pas un effet significatif très élevé. De plus, si l'on en tient compte, les différences de reprise observées entre les clones sont encore significatives. En effet, en prenant pour variance de l'erreur celle de l'interaction, on obtient pour F une valeur de 7,5 alors que la limite donnée par la table de SNEDECOR est 1,3.

La variance de la différence entre deux moyennes générales est égale à 30,15 en prenant pour variance de l'erreur celle de l'interaction et la plus petite différence significative a pour valeur 11.

Le tableau 3 donne la répartition par classe (de 10 en 10) des degrés de reprise (exprimés en $\sin^2 \Theta$) des clones étudiés.

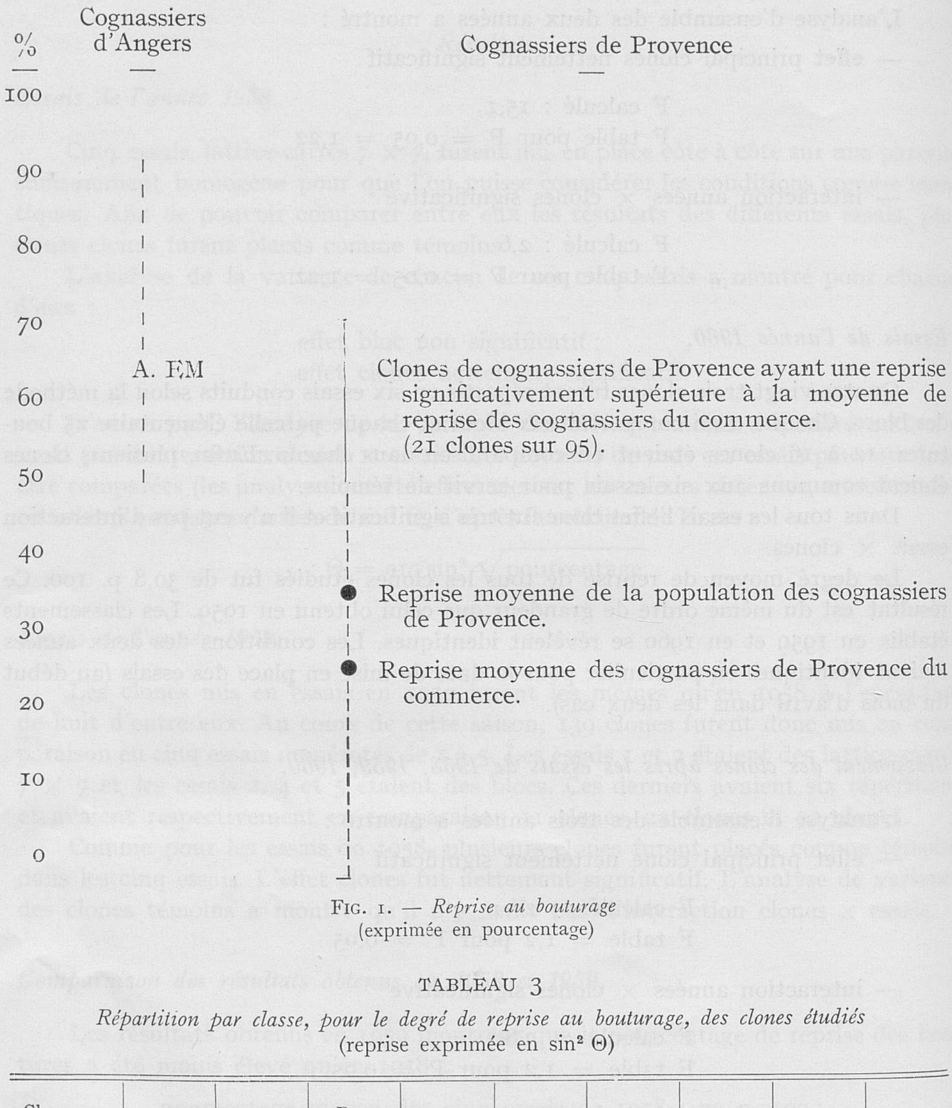


FIG. 1. — *Reprise au bouturage*
(exprimée en pourcentage)

TABLEAU 3

Répartition par classe, pour le degré de reprise au bouturage, des clones étudiés
(reprise exprimée en $\sin^2 \Theta$)

Classe en $\sin^2 \Theta$		Angers	Provence	V	III	IV	XIII	VII	XI
0- 9	1		1						
10-19	4		3						1
20-29	15		13						2
30-39	50		48				1	1	
40-49	40	6	27		3	2	2		
50-59	21	13	3		3	2			
60-69	5	3		1	1				
70-79	1	1							
Total	137	23	95	1	7	4	3	1	3

D'après ce tableau, on constate que :

— chacun des groupes a un taux de reprise bien déterminé,

— l'ensemble des clones de cognassiers d'Angers a un taux moyen de reprise (54) supérieur à celui des clones de Provence (36). Il faut remarquer toutefois que certains clones de cognassiers de Provence bouturent aussi bien que les cognassiers d'Angers (fig. 1).

Choix des meilleurs clones de Cognassiers de Provence.

En prenant comme témoin le A d'East Malling dont le taux moyen de reprise des trois années est de 54 et en adoptant la valeur 11 pour la plus petite différence significative, nous avons :

1° Trois clones significativement supérieurs au A d'East Malling. Il s'agit de deux clones de cognassiers d'Angers et d'un clone de cognassier de Palestine ayant les caractéristiques botaniques des cognassiers d'Angers.

TABLEAU 4

Aptitude au bouturage : taux de reprise au bouturage des meilleurs clones de cognassiers de Provence

	Taux de reprise	
	En $\sin^2 \Theta$	En %
C-103	56,3	69,2
C-70-2	51,6	61,4
C-78-2	50,1	58,9
C-72-1	49,9	58,5
C-146-9	47,2	53,9
C-144-3	46,9	53,3
C-75-8	46,2	52,1
C-146-11	45,6	51,0
C-117	45,0	50,0
C-60-3	45,0	50,0
C-143	45,0	50,0
C-56-4	44,7	49,5
C-141-2	44,5	49,1
C-99-1	44,1	48,4
C-141-1	43,9	48,0
C-115	43,6	47,5
C-112	43,4	47,2
C-98-4	43,2	46,9
C-140-3	43,1	46,7
C-120	43,1	46,7
C-87-25	43,0	46,5
A. EM	54,0	65,0

2° 54 clones non significativement différents du A d'East Malling. Ces clones se répartissent en :

20 clones de cognassiers d'Angers,

21 clones de cognassiers de Provence.

C d'East Malling,
6 clones de Palestine (groupe III),
4 clones d'origine italienne (groupe IV),
2 clones de cognassiers à petites feuilles rondes et à mérithalles très courts (groupe XIII).

3° 78 clones significativement inférieurs au A d'East Malling.
1 clone de cognassier d'Angers,
74 clones de cognassiers de Provence,
3 clones de cognassiers de Palestine (groupe XI).
1 clone de cognassier à petites feuilles rondes et à mérithalles très courts (groupe XIII).

Les 21 clones de cognassiers de Provence dont le taux de reprise au bouturage est égal à celui du A d'East Malling sont significativement supérieurs pour cette aptitude à ceux du commerce. Pour ceux-ci, le taux moyen de reprise est de 31 (exprimé en $\sin^2 \Theta$) dans les conditions de nos essais. Le tableau 4 donne la liste des 21 clones avec leur taux de reprise.

Pour terminer ce paragraphe, signalons que les essais de bouturage ont été effectués avec des boutures sans talon. Pour certains d'entre eux, un essai a été conduit avec des boutures à talon. Le pourcentage de reprise a été une fois et demie à deux fois supérieur.

Résultats obtenus p. 100

C-85-1 : 87	C-60-3 : 65	C-143 : 82	C-72-1 : 88
C-109-2 : 83	C-98-4 : 67	C-115-1 : 73	A. EM : 100

Marcottage

Méthodes exéprimentales et matériel utilisé

Matériel végétal étudié.

Cette étude a porté sur une collection de 200 clones de cognassiers plantés au cours de l'hiver 1953-54. Chaque clone était représenté par cinq pieds-mères conduits en marcottage en cépée. La collection était divisée en sept planches comprenant chacune 33 rangs, chaque rang contenant un clone. Les rangs étaient à 1,25 m l'un de l'autre et les pieds-mères à 0,80 m. Chaque planche comportait deux témoins, un clone de cognassier d'Angers ((A d'East Malling) et un clone de cognassier de Provence, plantés côte à côte sur deux rangs et répartis au hasard dans la collection.

Méthode suivie.

Les sujets furent rabattus au bout d'un an mais la production de l'année suivante n'a pas été utilisée dans les calculs de production. Le démarcottage avait lieu chaque année au mois de décembre et les marcottes obtenues étaient classées en trois choix. Le premier choix correspondait aux marcottes très bien racinées de calibre compris entre 6 mm et 10 mm, le deuxième aux marcottes peu racinées quel que soit le calibre. Le troisième comprenait les marcottes non racinées. Les observations ont porté sur cinq années de production de 1956 à 1960.

Afin de vérifier que la situation des pieds-mères sur le terrain n'avait pas d'influence sur la production, nous avons effectué l'analyse de la variance de la production des deux clones témoins répartis dans les sept parcelles pendant les cinq années de production. D'après cette analyse, les productions de tous les clones sont comparables quel que soit l'emplacement de ceux-ci dans la collection.

Résultats

Classement des clones après la production de cinq années

Pour chaque clone, la production a été exprimée par la moyenne annuelle de marcottes de premier choix par pied-mère. D'après l'analyse de la variance, l'effet clone est très significatif et la plus petite différence significative entre les moyennes de deux clones est de cinq marcottes pour P = 0,05.

Le tableau 5 donne pour les différents groupes la répartition des clones par classe (de 3 en 3) pour leur production.

TABLEAU 5

Répartition par classe, pour la production de marcottes par pied-mère, des clones étudiés

	Total	Angers	Provence	V	III	IV	XIII	VII	XI	XII
1- 3	9		7					1		1
4- 6	16		11	2		2		1		
7- 9	31	4	22			5				
10-12	34	6	26		1				1	
13-15	45	7	32		4	1	1			
16-18	39	7	28		3				1	
19-21	20	4	14				2			
22-24	4	1	3							
25-27	2		2							
Total	200	29	145	2	8	8	3	2	2	1

Ce tableau montre que :

— les histogrammes de fréquences des cognassiers d'Angers et des cognassiers de Provence ont sensiblement la même allure, et la même médiane.

— les moyennes sont peu différentes :

14 marcottes par pied-mère pour les cognassiers d'Angers,

13 marcottes par pied-mère pour les cognassiers de Provence alors que pour la multiplication par bouturage les moyennes étaient, nous l'avons vu, très différentes ;

— l'amplitude de variation pour la production de marcottes est plus étendue chez les cognassiers de Provence de sorte que dans ce groupe, plusieurs clones sont supérieurs aux cognassiers d'Angers.

Choix des meilleurs clones de Cognassiers de Provence pour la multiplication par marcottage.

Les lots de cognassiers de Provence des pépinières commerciales ont donné dans es essais une production moyenne de douze marcottes de premier choix par pied-mère.

Si l'on prend comme témoin le A d'East Malling qui a eu une production de 19 marcottes de premier choix par pied-mère, tous les clones ayant une production

de 24 marcottes et plus lui sont significativement supérieurs. Seuls deux clones de cognassiers de Provence sont dans ce cas :

C-85-1 27 marcottes
C-144-3 25 marcottes

Aucun autre clone, que ce soit parmi les cognassiers d'Angers ou parmi les autres groupes, n'est supérieur au A d'East Malling.

TABLEAU 6

Aptitude au marcottage : production par pied-mère des meilleurs clones de Cognassiers de Provence

Clones	Marcottes par pied-mère
C-85-1	27
C-144-3	25
C-86-17	23
C-109-2	23
C-146-9	23
C-25-L1	21
C-98-1	21
C-141-1	21
C-55-5	20
C-60-3	20
C-71-5	20
C-96-8	20
C-111	20
C-141-2	20
C-68-5	19
C-98-4	19
C-104	19
C-112	19
C-75-8	19
C-29-L1	19
C-56-4	18
C-59-3	18
C-81-1	18
C-91-1	18
C-98-5	18
C-108-2	18
C-115-1	18
C-135-5	18
C-143	18
C-144-4	18
C-147-2	18
C-51-1	17
C-58-4	17
C-68-8	17
C-72-1	17
C-78-2	17
C-88-2	17
C-103	17
C-167-3	17
A. EM	19

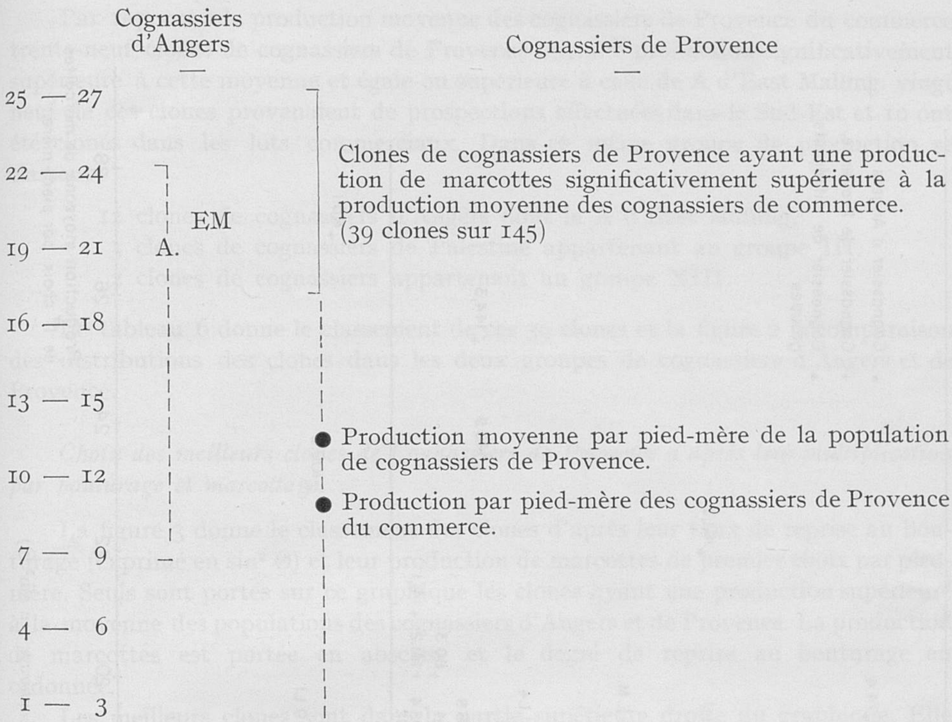


FIG. 2. — *Multiplication par marcottage*

TABLEAU 7

Classement des meilleurs clones de Cognassiers de Provence pour la multiplication par bouturage et marcottage

Clones	Marcottes par pied-mère	Reprise au bouturage (%)
C-85-1	27	42,0
C-144-3	25	58,0
C-146-9	23	54,0
C-109-2	23	39,0
C-141-1	21	48,0
C-60-3	20	50,0
C-141-2	20	49,0
C-75-8	19	52,0
C-98-4	19	47,0
C-112	19	47,0
C-29-L1	19	39,0
C-143	18	50,0
C-56-4	18	49,0
C-115-1	18	47,5
C-103	17	69,0
C-78-2	17	59,0
C-72-1	17	59,0
A. EM	19	65,0

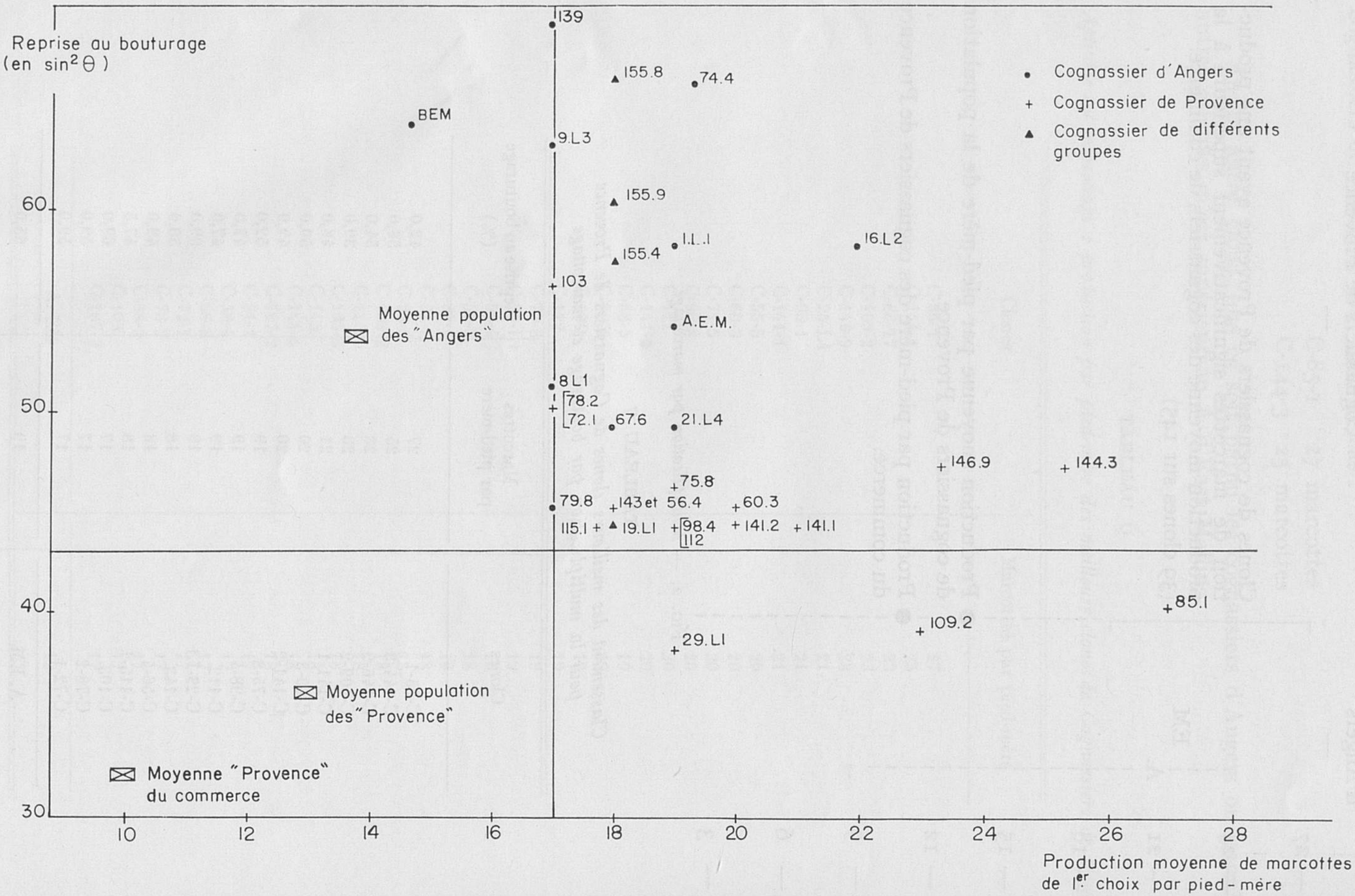


FIG. 3. — *Reprise au bouturage* (en sin² Θ)

Par rapport à la production moyenne des cognassiers de Provence du commerce trente-neuf clones de cognassiers de Provence ont une production significativement supérieure à cette moyenne et égale ou supérieure à celle de A d'East Malling. vingt neuf de ces clones provenaient de prospections effectuées dans le Sud-Est et 10 ont été clonés dans les lots commerciaux. Dans ce même groupe de production se classent :

12 clones de cognassiers d'Angers dont le A d'East Malling,
3 clones de cognassiers de Palestine appartenant au groupe III,
2 clones de cognassiers appartenant au groupe XIII.

Le tableau 6 donne le classement de ces 39 clones et la figure 2 la comparaison des distributions des clones dans les deux groupes de cognassiers d'Angers et de Provence.

Choix des meilleurs clones de Cognassiers de Provence d'après leur multiplication par bouturage et marcottage.

La figure 3 donne le classement des clones d'après leur taux de reprise au bouturage (exprimé en $\sin^2 \Theta$) et leur production de marcottes de premier choix par pied-mère. Seuls sont portés sur ce graphique les clones ayant une production supérieure à la moyenne des populations des cognassiers d'Angers et de Provence. La production de marcottes est portée en abscisse et le degré de reprise au bouturage en ordonnée.

Les meilleurs clones sont dans la partie supérieure droite du graphique. Elle est limitée par les droites ayant pour abscisse 17 et pour ordonnée 43. Ces valeurs sont celles au-delà desquelles les clones ont une multiplication par bouturage et marcottage significativement supérieure à la production moyenne des cognassiers de Provence du commerce.

Les clones les meilleurs sont au nombre de 14 auxquels il faut en ajouter 3 : C-29-L1, C-85-1 et C-109-2 qui se multiplient très bien par marcottage mais qui ont un comportement moyen au bouturage.

Le tableau 7 donne le classement des meilleurs clones de Provence.

Dans le même groupe de production se classent :

10 clones de cognassiers d'Angers,
3 clones de cognassiers appartenant au groupe III,
1 clone de cognassiers appartenant au groupe XIII.

COMPORTEMENT EN PÉPINIÈRES. SÉLECTION POUR L'AFFINITÉ

Le problème de l'affinité entre le porte-greffe et le greffon est la base de tout travail d'amélioration sur les porte-greffes lorsque les deux individus ne sont pas de la même espèce. Ceci est particulièrement vrai dans le cas des poiriers greffés sur cognassier où l'on trouve associés deux genres différents : *Pyrus communis* pour le greffon et *Cydonia vulgaris* pour le porte-greffe. Chacun d'eux a ses exigences

et élabore des produits qui lui sont propres. Or, nous sommes loin de connaître exactement le métabolisme des échanges qui s'effectuent entre eux. Ce problème des relations entre deux espèces ou deux genres associés par le greffage a fait l'objet de nombreux travaux. Si la plupart des symptômes d'une combinaison défectueuse sont bien connus, on en est réduit le plus souvent à des hypothèses pour en expliquer les causes.

Dans l'union du Poirier et du cognassier, le cas le plus fréquent d'incompatibilité se traduit par un décollement au point de greffe, soit en pépinières, soit plus tard dans le verger. Très souvent, aucun symptôme ne laisse prévoir de décollement car les arbres peuvent présenter une vigueur normale. Cependant, il arrive que cette incompatibilité s'extériorise par un manque de vigueur ou un rougissement précoce des feuilles. D'après les travaux de HERRERO, on trouve toute une gamme d'altérations au point de greffe « depuis un simple changement dans l'orientation des tissus du bois jusqu'à une séparation complète des tissus lignifiés du porte-greffe et de la variété par une couche de parenchyme non lignifiée ». Ces altérations peuvent être différentes d'une combinaison de greffe à une autre, d'un individu à l'autre pour une combinaison identique ou d'un endroit à l'autre du point de greffe pour un même individu. Cet auteur a montré que la mort de quelques cellules de la région cambiale au point de greffe était responsable de cette incompatibilité. La cause de la mort de ces cellules est encore mal connue. D'après plusieurs auteurs, HERRERO (1951), MOSSE et SCARAMUZZI (1956), elle serait due à l'accumulation de substances toxiques au point de greffe. Récemment, GUR (1957) a expliqué la mort des cellules cambiales par la formation d'acide cyanhydrique à ce point. Cet acide proviendrait de l'hydrolyse d'un glucoside du cognassier, la prunasine, par un enzyme présent dans la variété de Poirier.

D'autres cas d'incompatibilité, cependant moins fréquents, peuvent être également rencontrés. CAMPBELL en 1957 et LUCKWILL en 1958 ont signalé des cas dus très probablement à des maladies à virus.

Le travail rapporté ici avait pour but de sélectionner les meilleurs combinaisons par des observations en pépinières. Ces observations ont porté sur :

— le pourcentage de reprise des écussons,
— la vigueur des scions d'un an,
— l'examen de la structure anatomique du point de greffe sur des arbres âgés de trois ou quatre ans.

Pourcentage de reprise des écussons

Une mauvaise reprise des écussons peut être due à une mauvaise affinité entre les deux partenaires ou à un état sanitaire défectueux. C'est pourquoi il était intéressant de connaître le taux de reprise des variétés de Poirier avec les clones de la collection. Dans ce but, la plupart des clones furent écussonnés avec deux variétés très cultivées : *Williams* et *Passe-Crassane*. On observa des différences assez grandes de reprise avec les clones et les variétés mais en aucun cas, cette reprise ne fut nulle. Par la suite, 170 clones appartenant aux différents groupes botaniques furent choisis d'après leur taux de reprise avec les deux variétés de telle sorte que toute la gamme des taux de reprise fut représentée. Ces clones furent écussonnés avec cinq variétés :

Docteur Jules Guyot, Précoce de Trévoux, Williams, Conférence et *Passe-Crassane.* Les résultats furent consignés en cinq classes :

Classe 1 : écussons ayant repris de 20 à 39 p. 100.
Classe 2 : écussons ayant repris de 40 à 59 p. 100.
Classe 3 : écussons ayant repris de 60 à 79 p. 100.
Classe 4 : écussons ayant repris de 80 à 89 p. 100.
Classe 5 : écussons ayant repris de 80 à 100 p. 100.

Le tableau 8 donne pour chaque variété le pourcentage des clones appartenant à chaque classe. Ce tableau montre que :

— avec plus de 50 p. 100 des clones étudiés, les cinq variétés ont eu une très bonne reprise (90 à 100 p. 100)

— avec la variété *Docteur Jules Guyot*, les reprises ont été en moyenne inférieures,

— les clones sur lesquels les variétés ont une très mauvaise reprise sont très peu nombreux. Il s'agit des clones des groupes XI et XII originaires de Palestine.

TABLEAU 8

Répartition des clones de Cognassier selon le taux de reprise des écussons de cinq variétés de Poirier

	Classe 1 (%)	Classe 2 (%)	Classe 3 (%)	Classe 4 (%)	Classe 5 (%)
Docteur Jules Guyot	0	6,4	22,5	25,8	45,0
Précoce de Trévoux	1,9	5,8	5,8	36,5	50,0
Williams	0	3,3	8,7	26,1	61,9
Conférence	0	10,0	10,0	15,0	65,0
Passe-Crassane	1,8	1,8	9,6	28,7	58,1
Moyenne	0,74	5,5	11,3	26,4	56,0

Cinquante clones choisis parmi les meilleurs d'après cet essai furent écussonnés pendant cinq années de suite, de 1957 à 1962, avec les variétés *Williams* et *Passe-Crassane* et pendant trois années avec les variétés *Épine du Mas, Beurré Hardy, Conférence* et *Docteur Jules Guyot.*

Les résultats obtenus avec les variétés *Williams* et *Passe-Crassane* ont montré que :

— avec la variété *Williams,* onze clones ont eu chaque année une reprise de plus de 90 p. 100,

— avec la variété *Passe-Crassane,* neuf clones se trouvent dans ce cas.

Le tableau 9 donne la liste de ces clones.

Sur ces treize clones, sept ont eu un très bon comportement avec les deux variétés. Ce sont tous des cognassiers de Provence :

— C-29-L1 a été cloné dans un lot commercial,

— C-81-1, C-85-1, C-98-4, C-207-1 et C-212 ont été prospectés en Provence,

— C-230 a été prospecté dans le Lot.

Avec les autres variétés, les résultats ont été sensiblement les mêmes qu'avec *Williams* et *Passe-Crassane* sauf avec la variété *Guyot*. Avec cette variété, les meilleurs résultats ont été obtenus avec les clones :

C-98-4 : 70 p. 100,
C-85-1 : 75 p. 100,
C-130 : 75 p. 100,
C-36-R1 : 73 p. 100,
C-62-1 : 70 p. 100,

TABLEAU 9

Taux de reprise des écussons avec les meilleurs clones de cognassiers de Provence

	Pourcentage de reprise avec *Williams*	Pourcentage de reprise avec *Passe-Crassane*
C-19-L1	85	93
C-29-L1	93	95
C-32	90	87
C-60-3	91	82
C-81-1	90	91
C-85-1	93	94
C-98-4	92	93
C-207-1	97	91
C-212	95	95
C-226-6	78	93
C-227	96	86
C-230	93	90
C-231-1	98	73
A. EM	81	85

Vigueur des scions d'un an

La vigueur d'un scion n'est pas forcément liée à une bonne affinité. Cependant, la mensuration de la hauteur du scion et celle de sa circonférence prise à vingt centimètres au-dessus du point de greffe permettent l'élimination des combinaisons de faible vigueur qui, très probablement, ont une mauvaise affinité ou un état sanitaire défectueux. La moyenne des mensurations de la hauteur des scions pendant quatre années pour tous les clones a été :

avec la variété *Williams* de 117 cm,
avec la variété *Passe-Crassane* de 106 cm.

Dans les deux cas, la plus petite différence significative a été de 7 pour P = 0,05.

Le tableau 10 donne les clones significativement supérieurs à la moyenne de la population avec les deux variétés *Williams* et *Passe-Crassane*. Le clone A d'East

Malling est mis en comparaison (seules les mensurations soulignées sont significativement supérieures).

Ce sont tous des cognassiers de Provence provenant des prospections du sud de la France sauf le C-29-L1. Avec trois d'entre eux, les deux variétés ont une très bonne vigueur. Il s'agit des clones C-85-1, C-98-4 et C-140-2.

TABLEAU 10

Hauteur des scions d'un an de deux variétés avec les meilleurs clones de Cognassiers de Provence

	Hauteur en cm des scions de	
	Williams	*Passe-Crassane*
C-29-L1	*127*	110
C-60-3	*124*	106
C-85-1	*128*	*120*
C-98-4	*129*	*121*
C-140-2	*142*	*119*
C-143	*132*	98
C-207-1	123	*114*
C-210	*125*	108
C-226-6	123	*119*
A. EM	120	103

Examen de la structure anatomique du point de greffe

Dans une récente publication, Mosse (1962) rappelle que trois méthodes ont été utilisées pour estimer la compatibilité au point de greffe :

— mesure de la résistance du point de greffe au passage de l'eau (Chang, 1937 ; Evans et Milton, 1957) ;

— mesure de la résistance du point de greffe à la rupture par traction (Chang, 1937 ; Garner, 1948 ; Randhawa et Upshall, 1949 ; Evans et Milton, 1957 ; Lapins, 1959) ;

— examen microscopique et macroscopique de la structure anatomique du point de greffe (Garner, 1948 ; Herrero, 1951 ; Mosse, 1958-1960 ; Lapins, 1959).

La comparaison de ces méthodes a montré que la dernière est toujours la plus satisfaisante (Garner, 1948 ; Lapins, 1959). C'est elle que nous avons utilisée dans ce travail. Toutefois, la seconde méthode nous a également servi lorsque certaines combinaisons ont cassé naturellement au point de greffe par suite de coups de vent dans les vergers. Certaines combinaisons défectueuses ont été ainsi détectées.

La technique que nous avons employée est celle décrite par Herrero (1962). Elle repose sur l'observation macroscopique de coupes longitudinales de points de greffe. Les coupes sont exécutées selon le plan radial du tronc indiqué sur la figure 4.

Ces observations ont été complétées par l'examen de l'union à l'extérieur après enlèvement de l'écorce. On peut ainsi voir le degré de continuité du bois.

Comme l'a montré HERRERO (1951), l'examen de la structure interne de l'union doit être effectuée sur des arbres ayant au moins deux ans.

Les observations ont été classées d'après les cinq catégories établies par HERRERO (1962), figures 4 et 5.

A — Unions parfaites. La ligne de l'union entre variété et porte-greffe est imperceptible.

B — Unions qui présentent le bois et l'écorce continus mais qui ont quelques défauts de structure tels que distorsion dans le bois, légère involution cambiale et d'autres défauts qui ne sont pas absolument symptomatiques de l'incompatibilité.

C — Unions avec l'écorce partiellement discontinue ; quelques rares vaisseaux discontinus sur toute la ligne de l'union. Quelques défauts de structure signalés en B peuvent être observés.

D — Unions avec le bois partiellement discontinu par la présence d'assises de parenchyme non lignifié dans le plan de l'union. En général, ces unions présentent une discontinuité de l'écorce.

E — Unions qui présentent un degré élevé de discontinuité dans le bois et qui de ce fait, décollent facilement.

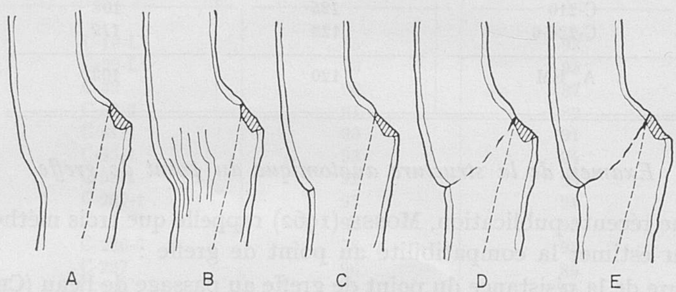


FIG. 4.

A Parfaite. — B Quelques légers défauts de structure sans gravité. — C Discontinuité dans l'écorce. — D Discontinuité dans l'écorce et dans le bois. — E Comme « D », mais symptômes plus accentués.

Les unions appartenant aux catégories A, B et C sont mécaniquement solides tandis que celles des catégories D et E présentent des décollements sous la violence du vent dans les vergers.

Nous avons effectué nos observations sur des arbres âgés de trois ans à raison de dix sujets par combinaison.

Le tableau 11 donne les résultats obtenus. Pour chaque combinaison, le nombre inscrit indique la quantité d'arbres classés dans les catégories A, B et C, c'est-à-dire, dans les unions qui ne décollent pas au point de greffe. Ce tableau montre que :

— avec les variétés *Beurré Hardy* et *Passe-Crassane*, les unions sont toujours bonnes ;

— avec les variétés *Docteur Jules Guyot* et *Épine du Mas*, aucune union n'est compatible ;

— avec les autres variétés, l'affinité varie avec le clone de cognassier.

Les meilleures combinaisons sont :

Williams avec C-85-1, C-98-4 et C-136-2.
Conférence avec C-29-L1, C-98-4.
Alexandrine Douillard avec C-85-1, C-98-4 et C-109-2.
Beurré Précoce Morettini avec A. EM et C 98-4.

D'après ces résultats :

— les clones C-29-L1, C-98-4, C-85-1 et C-136-2 sont les meilleurs ; par contre, le clone C-109-2 a une mauvaise affinité avec la *Williams*.

— aucun clone parmi ceux que nous avons étudiés ne semble compatible avec les deux variétés *Docteur Jules Guyot* et *Épine du Mas*.

TABLEAU II

Quantité de sujets par combinaisons dans les catégories A, B, C

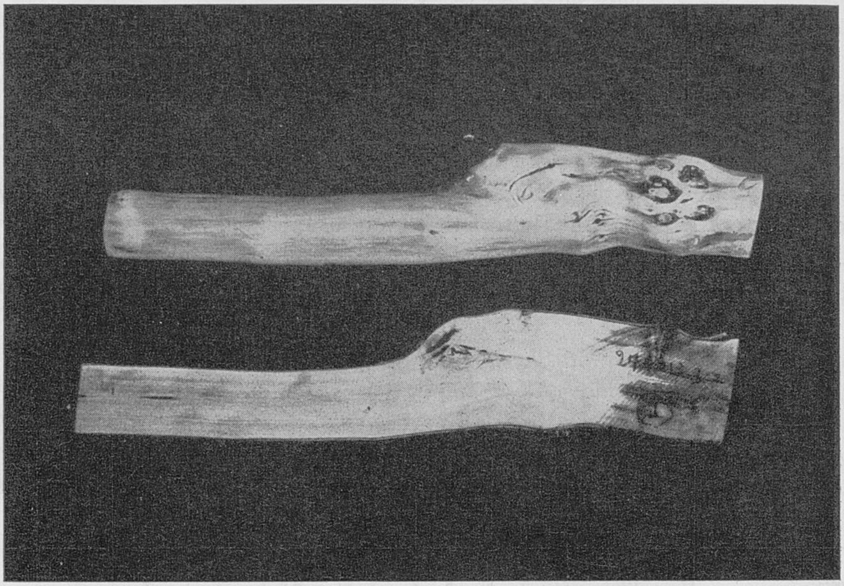
	Sujets observés par porte-greffe	A. EM	C-98-4	C-109-2	C-85-1	C-36-1	C-136-2	C-143	C-29-L1
Williams	10	5	8	2	8	5	8		
Passe-Crassane	10	10	10	10	10	10	10		
Beurré Hardy	10	10	10	10	10	9	10		
Épine du Mas	10	0	1	1	1	0	1	0	
Conférence	10	5	10	7				6	8
Guyot	10		0	0	0	0			
Alexandrine Douillard.	10		10	10	10	3		7	
Beurré Précoce Morettini............	10	8	10	7					

Certaines unions n'ont pas été examinées, en particulier celles avec le clone C-29-L1. Ce porte-greffe a été planté dans presque tous les vergers d'essai et, jusqu'à présent, aucun arbre ne s'est brisé au point de greffe. De plus, nous avons vu qu'il confère aux variétés une très bonne vigueur.

TYDEMAN (1949) avait déjà montré d'après les résultats d'un essai de greffage de la variété *Docteur Jules Guyot* sur 15 clones de cognassier l'incompatibilité de cette variété sur le cognassier. Ce manque d'affinité se traduit davantage par un manque de vigueur que par des décollements à l'union. HERRERO et TABUENCA (1962) ont fait la même observation.

Pour notre part, nous n'avons enregistré aucun décollement au point de greffe sur 60 sujets de cette variété greffés sur 20 clones de cognassiers. Les arbres sont actuellement âgés de 10 ans et de faible vigueur. Le même comportement a été observé sur 200 arbres âgés de 2 ans de deux essais plantés dans la vallée du Rhône et la région de Fréjus alors que dans les mêmes conditions, 13 arbres sur 150 de la variété *Williams* ont décollé au point de greffe par le vent.

Il est possible que le manque d'affinité de la variété *Docteur Jules Guyot* avec le cognassier ne soit pas tout à fait du même type que celui de la variété *Williams*. Nous envisageons d'aborder l'étude de ce cas particulier.



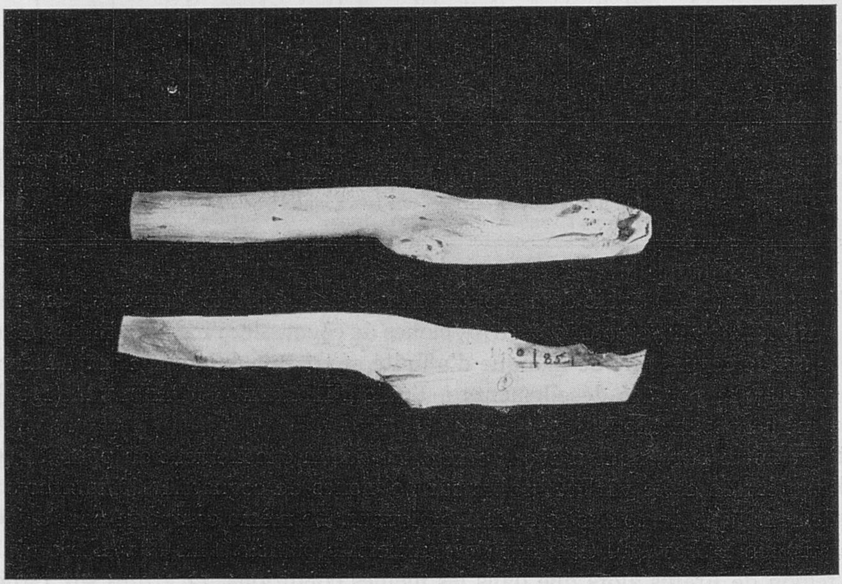


FIG. 5 *a*.

Photo (1). — Catégorie A. — *Passe-Crassane* sur C-213
Photo (2). — Catégorie A. — *Beurré Hardy* sur C-85-1

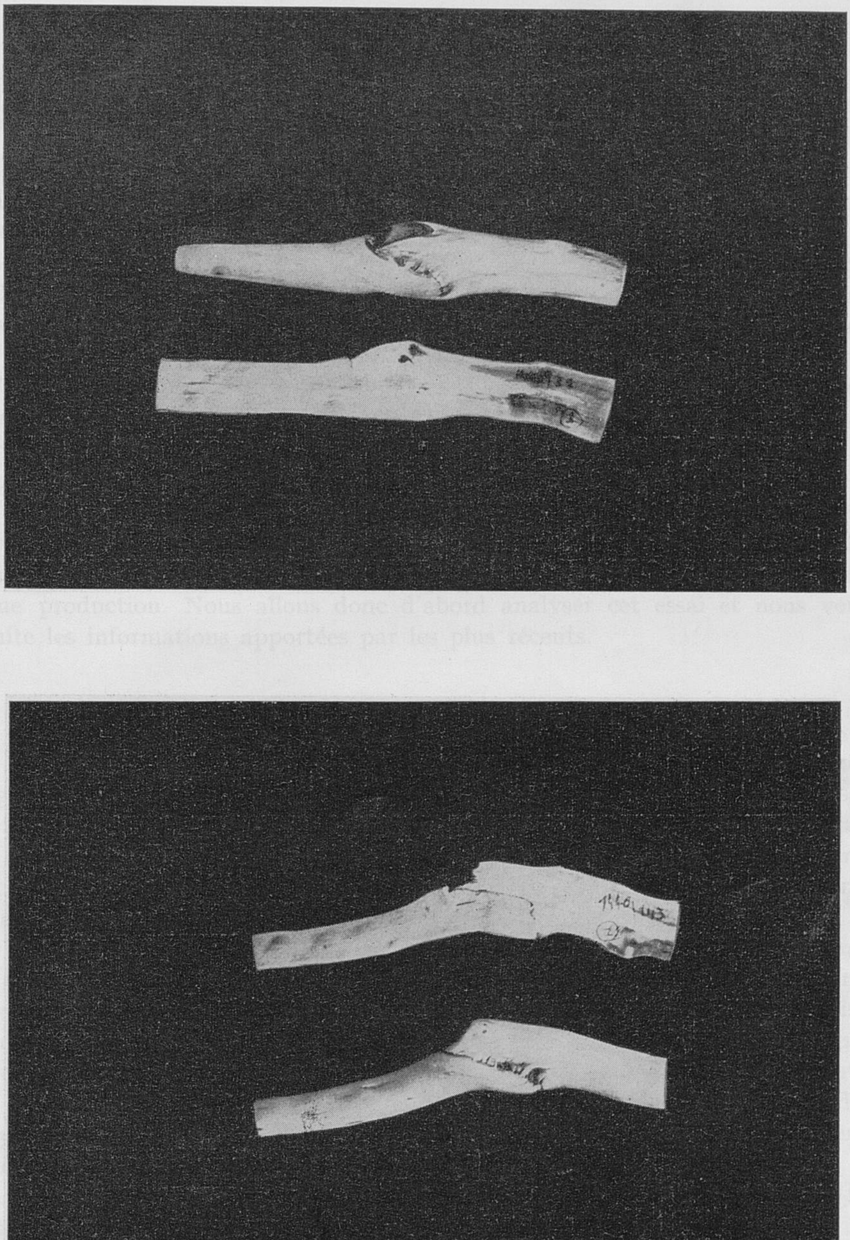
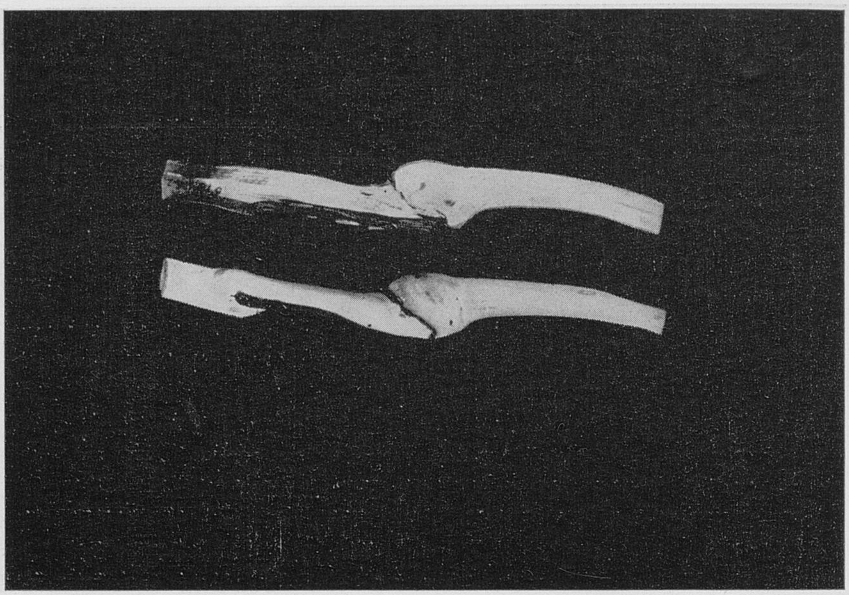


FIG. 5 *b*.

Photo (3). — Catégorie C. — *Alexandrine Douillard* sur C-38
Photo (4). — Catégorie D. — *Alexandrine Douillard* sur C-143



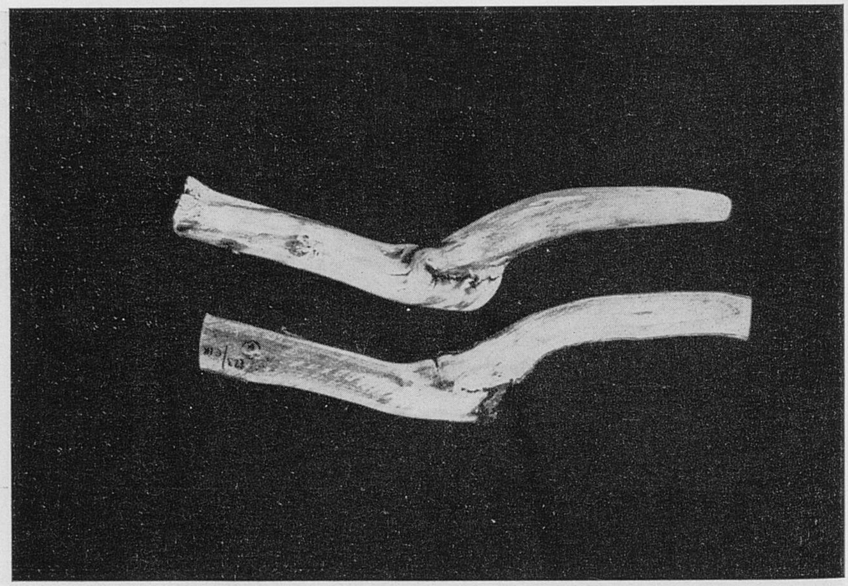


FIG. 5 *c*,
Photo (5). — Catégorie E. — *Williams* sur A. EM
Photo (6). — Catégorie E. — *Épine du Mas* sur C-136-2

COMPORTEMENT EN VERGER

Actuellement, cent clones écussonnés avec les variétés *Williams* et *Passe-Crassane* sont à l'étude dans sept vergers d'essais sur le domaine de la Station d'Angers. Un essai est conduit selon la méthode des blocs de Fisher et les six autres sont des lattice-carrés 7 × 7.

Ces essais ont été complétés par un réseau de vergers mis en place dans les principales régions fruitières françaises. Vingt clones, choisis d'après leur place dans la classification des cognassiers et d'après leur bon comportement en pépinières ont été plantés dans ces vergers. Ils sont écussonnés principalement avec les variétés *Williams* et *Passe-Crassane* et aussi avec les variétés *Épine du Mas, Beurré Hardy, Conférence, Docteur Jules Guyot, Doyenné du Comice, Alexandrine Douillard* et *Beurré Précoce Morettini*. Tous ces essais sont conduits selon la méthode des blocs de Fisher avec 10 à 15 répétitions et un ou deux arbres par parcelle élémentaire.

Sur le domaine de la Station, les plantations des vergers ont été effectuées au cours des saisons 1954-1955, 1958-1959 et 1959-1960, Les autres vergers ont été plantés depuis 1959. L'essai planté pendant l'hiver 1954-1955 arrive au stade de pleine production. Nous allons donc d'abord analyser cet essai et nous verrons ensuite les informations apportées par les plus récents.

Analyse de l'essai mis en place au cours de l'hiver 1954-1955

Cet essai est planté dans un sol silico-limono-argileux avec augmentation de l'argile et du limon en profondeur. On y trouve de nombreux éléments grossiers. La roche-mère, schistes en voie de décomposition, est en moyenne à 50 cm.

La moyenne annuelle des chutes de pluie au cours de ces dix dernières années a été de 621 mm. Le nombre de jours de pluie est de 150 jours environ. Les périodes sèches sont généralement les mois de mars-avril et ensuite les mois de juillet et d'août.

Les arbres provenaient des essais d'écussonnage. Les clones de cognassiers ont été choisis d'après le taux de reprise des variétés à l'écussonnage, la vigueur des scions et la solidité du point de greffe. Les sujets étaient alors âgés de trois ans. Ils ont été plantés à trois mètres et conduits en forme de fuseau. Le dispositif de l'essai est celui des blocs avec un arbre par parcelle élémentaire.

Les mensurations de la circonférence du tronc à vingt centimètres au-dessus du point de greffe ont été effectuées chaque année au cours de l'hiver. La première récolte a été réalisée en 1959, c'est-à-dire à la cinquième année de plantation. Pour l'analyse de cet essai, nous avons considéré deux périodes : avant la mise à fruits et à partir de l'entrée en production. De cette façon, nous avons essayé de noter la vigueur intrinsèque des clones avant la production, puis la répercussion de la production sur la croissance.

La vigueur a été évaluée de deux façons :

— par la mensuration de la circonférence du tronc qui représente à un moment donné la vigueur de l'arbre, c'est une indication statique ;

— par le taux de croissance de l'arbre pour une période déterminée. Celui-ci indique le potentiel de vigueur de l'arbre. C'est une mesure dynamique de la vigueur.

Le taux de croissance pour une période donnée peut s'exprimer en fonction des mensurations de la circonférence des troncs du début et de la fin de la période considérée par le rapport :

$$\frac{\text{circ. année } (n + p)}{\text{circ. année } (n)}$$

ou en logarithmes :

$$\text{Log circonférence année } (n + p) - \text{log circonférence année } (n).$$

Pour évaluer l'influence de la production sur la vigueur, nous avons établi le rapport :

$$\frac{\text{taux de croissance depuis la production}}{\text{taux de croissance avant la production}} \times 100$$

qui, en tenant compte de l'importance de la récolte pendant la période considérée et la vigueur (exprimée par la circonférence du tronc) à la fin de cette période est une bonne indication de cette influence.

Enfin, l'accroissement des récoltes d'une année à l'autre fut estimé par le rapport :

$$\left[\frac{\text{récolte de l'année } (n)}{\text{récolte de l'année } (n - 1)} \times 100\right] - 100$$

Les clones de cognassiers de l'essai n'étant pas exactement les mêmes avec les deux variétés, nous donnerons d'abord les résultats obtenus avec la variété *Williams* puis avec la variété *Passe-Crassane*..

Résultats obtenus avec la variété Williams.

A l'origine, 32 clones étaient en comparaison. 9 clones furent éliminés par suite du décollement au point de greffe d'un ou plusieurs de leurs arbres. L'étude porte donc sur 23 clones.

L'analyse de la variance des circonférences des troncs mesurées au cours de l'hiver précédant la première récolte a montré qu'il y avait un effet clone significatif. Par rapport au A d'East Malling, aucun clone ne lui est significativement supérieur et un seul lui est significativement inférieur. Il s'agit d'un clone appartenant au groupe XIII (les deux autres clones de ce groupe n'étaient pas dans l'essai). Par rapport à la circonférence moyenne des troncs des clones mis dans l'essai, trois classes ont été établies. Sept clones se placent dans les plus vigoureux : un clone de cognassier d'Angers et six clones de cognassiers de Provence dont le C-29-L1, le C-98-4 et le C-109-2.

L'analyse du taux de croissance pendant la période précédant la mise à fruits n'a pas donné de différences significatives.

Après cinq années de production, l'analyse de la vigueur d'après les circonférences des troncs et le taux de croissance a montré des différences significatives entre les clones. Cinq clones sont significativement inférieurs au A d'East Malling et aucun ne lui est supérieur.

La production cumulée des cinq années a montré aussi des différences significatives entre les clones. Par rapport au A d'East Malling, trois clones seulement lui sont significativement inférieurs. Il s'agit de deux clones de cognassiers de Provence et d'un clone du groupe V. Quatre clones sont significativement supérieurs à ceux-ci. Ce sont tous des cognassiers d'Angers. Dans l'ensemble, la production sur les cognassiers de ce groupe a été un peu plus élevée. La différence de production n'est cependant pas suffisante pour présenter un intérêt pratique. Elle est peut-être due à la différence de compatibilité de cette variété avec les deux groupes de cognassiers.

TABLEAU 12

Vigueur et production de sujets de Williams *âgés de 9 ans sur différents clones de cognassiers*

P. 123	Production cumulée en kg	Circonférence 1963-1964 en mm	Taux de croissance pendant la production	Rapport des taux de croissance × 100	Accroissement de récoltes 1963/1962
C-12-L1	59,000	263	210	60	6
A. EM	55,500	265	224	*73*	*26*
C-16-L2	54,000	259	207	52	— 2
C-17-L4	53,000	259	213	53	12
C-1-L1	50,000	258	178	52	6
C-76	50,000	235	212	64	5
C-140-3	50,000	276	193	64	15
C-109-2	49,000	268	203	*72*	*53*
C-29-L3	49,000	266	218	58	12
C-29-L1	49,000	*285*	222	59	16
C-11-L2	49,000	240	210	64	— 2
C-30-L1	49,000	270	201	55	*39*
C-110	48,500	269	207	62	7
C-10-L2	48,000	247	197	53	*31*
C-26-L1	46,500	276	223	64	5
C-34-L3	46,000	231	179	50	17
C-98-4	45,000	*285*	*232*	*72*	*24*
C-35-L3	45,000	264	217	*82*	7
C-38	45,000	255	184	59	15
C-108-2	39,000	269	225	70	16
C-28-L5	38,000	260	219	74	7
C-19	31,000	229	207	68	13
p.p.d.s.	12,000	33	26		

Trois groupes ont été établis d'après la production. La répercussion de cette production sur la croissance a été analysée pour chacun de ces groupes de manière à comparer des clones de production identique.

Le tableau 12 donne par groupe les clones avec leurs caractéristiques de production, de vigueur, de croissance et de productivité.

Le premier groupe comprend quatre clones de cognassiers d'Angers dont le

A d'East Malling. Ces clones ont une vigueur et un taux de croissance identiques mais le rapport des taux de croissance est plus élevé pour le A d'East Malling et faible pour le C-16 et le C-17-L4. La comparaison des récoltes de 1962 et de 1963 montre que le taux d'accroissement des récoltes est de 26 pour le A d'East Malling et très faible ou même négatif pour les trois autres. On peut penser que ces derniers ont atteint leur pleine production.

Le deuxième groupe comprend quinze clones : six de cognassiers d'Angers et neuf de cognassiers de Provence. Les différences de vigueur sont plus accusées que dans le groupe précédent. Deux clones sont vigoureux : C-29-L1 et C-98-4. Pour le taux de croissance, le C-98-4 est le meilleur. Le rapport des taux de croissance présente une valeur élevée avec C-98-4, C-109-2 et C-35-L3. L'examen des poids des récoltes de 1962 et de 1963 montre pour ces clones un taux d'accroissement assez élevé pour deux d'entre eux :

C-109-2	53
C-98-2	24

alors que pour le C-35-L3, il est de 7 seulement.

D'autres clones ont également un taux d'accroissement de récoltes intéressant :

C-30-L1	39
C-10-L2	31

mais leur taux de croissance est faible ainsi que leur rapport de taux de croissance.

Bien qu'il soit prématuré de tirer des conclusions d'après les taux d'accroissement de récoltes, on peut penser que les trois clones C-29-L1, C-98-4 et C-109-2 sont actuellement les trois meilleurs d'après ce caractère, leur vigueur et leur taux de croissance.

Le troisième groupe comprend deux cognassiers de Provence et un clone appartenant au groupe V. Pour l'instant, ils présentent peu d'intérêt.

D'après cet essai, quatre clones semblent se distinguer :

A. EM
C-29-L1
C-98-4
C-109-2

Résultats obtenus avec la variété Passe-Crassane.

L'essai comprend vingt-huit clones. Toutes les combinaisons sont encore présentes après dix ans de plantation. Par rapport à l'essai précédent, la production cumulée est beaucoup moins élevée pendant la même période avec les mêmes clones de cognassiers. La moyenne des récoltes cumulées par arbre est de 46,7 avec la variété *Williams* et de 22,2 avec la variété *Passe-Crassane*.

Les résultats ont été analysés de la même façon que pour l'essai précédent. Les clones ont été divisés en trois groupes d'après la production cumulée. Le tableau 13 donne les clones par groupe avec leurs principales caractéristiques.

Le premier groupe comprend six clones. Cinq appartiennent au groupe des cognassiers d'Angers et un au groupe des cognassiers de Provence. Deux d'entre eux, C-76 et C-14-L3, ont une production significativement supérieure à celle du A d'East Malling dont le comportement avec *Passe-Crassane* est moyen.

Le deuxième groupe comprend dix-huit clones dont douze clones de cognassiers d'Angers et six clones de cognassiers de Provence. Pour la vigueur, évaluée d'après la circonférence du tronc, deux clones sont significativement supérieurs à la moyenne des clones de l'essai. Ce sont deux clones de cognassiers de Provence, C-25-L4 et C-38. Deux autres clones sont presque aussi vigoureux, C-26-L1 (cognassier de Provence) et C-15-L2 (cognassier d'Angers). Le clone C-38 a une bonne croissance, son rapport des taux de croissance des deux périodes étudiées est de 91 et son taux d'accroissement de récoltes entre les deux années 1963 et 1962 est de 78.

TABLEAU 13

Vigueur et production de sujets de Passe-Crassane *âgés de 9 ans sur différents clones de cognassiers*

P. 125	Production cumulée en kg	Circonférence fin 1963 en mm	Taux de croissance pendant la production	Rapport des taux de croissance × 100	Taux d'accroissement de récoltes 1963-1962
C-76	33,600	245	165	61	31
C-14-L3	31,200	261	161	70	64
C-12-L1	29,800	250	167	69	44
C-17-L4	29,600	243	165	62	51
C-36-R1	29,500	253	158	64	50
C-15-L1	28,500	256	160	71	16
C-30-L1	27,300	261	167	80	65
C-1-L1	26,700	239	164	83	6
C-25-L4	25,800	*270*	*171*	86	40
C-38	25,600	*273*	*174*	*91*	*78*
C-1-L2	25,300	247	158	62	59
C-32-L2	25,200	242	165	84	31
C-21-L4	24,900	246	163	65	60
C-140-3	24,500	259	165	*90*	63
C-34-L1	24,300	220	158	76	57
A. EM	24,200	238	167	79	52
C-9-L3	23,600	229	163	81	45
C-16-L2	23,200	221	158	56	51
C-15-L3	21,900	256	166	82	61
C-110	21,600	258	167	78	0
C-26-L1	21,200	*265*	*172*	86	37
C-8-L3	21,200	239	164	71	45
C-10-L2	21,000	218	160	74	0
C-15-L2	20,800	*267*	*172*	84	62
C-35-L1	20,600	251	157	66	37
C-109-2	19,700	253	163	70	*71*
C-29-L1	18,200	*270*	165	*90*	*101*
C-19-L1	15,400	238	159	78	31
p.p.d.s.	7	25			

Le troisième groupe comprend quatre clones :

un clone de cognassier d'Angers : C-35-L1 ;

deux clones de cognassiers de Provence : C-29-L1 et C-109-2 ;

et le clone C-19 appartenant au groupe XIII.

Le clone C-29-L1 a une vigueur significativement supérieure à la vigueur moyenne des clones de l'essai. Il se distingue également par sa croissance et son taux d'accroissement de récoltes.

Il est impossible de choisir actuellement les meilleurs clones. Toutefois, il semble que deux d'entre eux soient plus prometteurs : C-29-L1 et C-38.

Résultats obtenus avec les essais plus récents

Les vergers d'essai mis en place sur le domaine de la Station d'Angers au cours de l'hiver 1958-1959 ont produit une première récolte en 1962. Ils peuvent donc donner seulement des renseignements sur la vigueur des arbres. Tous ces essais montrent des différences de vigueur significatives entre les clones. Les clones ayant eu un bon comportement dans les essais précédents se classent encore parmi les meilleurs.

Les vergers d'essai plantés en France dans les principales régions de production fruitière sont encore trop jeunes pour apporter des renseignements valables. La plupart entrent ou vont entrer en production au cours des deux années à venir. Un seul essai situé dans le Sud-Ouest a donné une première récolte en 1963. Ce verger a quinze clones en comparaison répartis en onze blocs avec un arbre par parcelle élémentaire. Il est planté dans un sol d'alluvions du Tarn et greffé avec la variété *Passe-Crassane*. Le classement des clones d'après la mesure de la circonférence des troncs (exprimée en millimètres) est le suivant :

C-29-L1	226
C-98-4	225
C-60-3	222
C-120	222
C-81-1	220
C-101	217
C-27-L2	216
C-109-2	214
C-110	214
C-96-8	212
C-16-L2	201
C-35-L3	200
C-21-L4	192
A. EM	192
C-19-L1	188

Les différences sont nettement significatives. La plus petite différence significative est 13.

Le groupe des cognassiers d'Angers, c'est-à-dire les cinq derniers clones du classement, sont significativement inférieurs aux cognassiers de Provence. Parmi ces derniers, les clones C-98-4 et C-29-L1 sont les meilleurs.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les travaux décrits ci-dessus permettent actuellement de porter un jugement définitif sur l'aptitude des clones de cognassiers à la multiplication par voie végétative et sur leur comportement en pépinières. Par contre, les observations effectuées dans les vergers d'essai sont encore insuffisantes pour se prononcer d'une façon certaine sur le ou les meilleurs clones.

Les essais de bouturage et de marcottage ont montré qu'il n'y avait pratiquement pas de clone de cognassiers d'Angers supérieur au A d'East Malling. Les cognassiers de Provence ont révélé de plus grandes possibilités par marcottage. Certains clones, C-85-1 et C-144-3, sont nettement supérieurs au A d'East Malling. Trente-neuf d'entre eux ont une production de marcottes égale à ce dernier et significativement supérieure à celle des cognassiers de Provence du commerce.

Les observations en pépinières sur le taux de reprise des écussons, la vigueur des scions d'un an et l'observation anatomique des points de greffes ont entraîné l'élimination d'un certain nombre de clones. La mauvaise reprise des écussons et le manque de vigueur peuvent être attribués à deux causes : incompatibilité et maladies à virus. L'examen anatomique des points de greffes de combinaisons choisies parmi les plus vigoureuses a montré que certaines d'entre elles présentaient une très mauvaise soudure ; c'est le cas en particulier de *Williams* sur le clone C-109-2. Aucun clone n'a montré une bonne compatibilité avec les variétés Docteur *Jules Guyot* et *Épine du Mas*. Pour la première, le manque d'affinité se traduit par un manque de vigueur ; pour la seconde, de nombreux sujets cassent au point de greffe dans les vergers d'essai plantés dans le sud de la France alors que dans la région parisienne, aucun arbre n'a montré de tels décollements.

D'après les résultats enregistrés dans les vergers d'essai, trois clones de cognassiers de Provence se distinguent actuellement. Ce sont les clones C-29-L1, C-85-1 et C-98-4. Dans un rapport précédent (BROSSIER, 1962), l'intérêt possible de deux clones supplémentaires, C-26-L1 et C-109-2, avait été mentionné. Les observations effectuées depuis ont montré que le clone C-26-L1 n'était pas plus vigoureux que les clones C-98-4 et C-29-L1. Il est donc préférable de l'abandonner car sa multiplication est médiocre. Quant au clone C-109-2, l'examen des points de greffe a montré une mauvaise affinité avec la variété *Williams*. Bien que dans les vergers d'essai il ait eu jusqu'ici un bon comportement, il paraît préférable de l'éliminer.

Dans le groupe des cognassiers d'Angers, on n'a pas trouvé de clones supérieurs au A d'East Malling. Il y a deux ans, dans le rapport cité précédemment, deux clones, C-12-L1 et C-76, avaient été signalés comme paraissant mieux convenir que le A d'East Malling, le premier à la variété *Williams* et le second à la variété *Passe-Crassane*. Depuis, après deux années supplémentaires de végétation et de récoltes, leur comportement n'apparaît pas supérieur à celui du A d'East Malling.

Quant aux cognassiers de Fontenay qui, comme nous l'avons dit, sont un groupe appartenant à la population des cognassiers de Provence, aucun des clones en essai n'a montré de performances particulières jusqu'à maintenant. De nouvelles souches

de ce groupe de cognassiers ont été introduites en 1962 pour étudier cette population d'une façon plus complète.

Enfin, les clones appartenant aux autres groupes mis en évidence dans la classification botanique, n'ont pas encore été suffisamment observés pour porter un jugement sur leur valeur.

En général, les cognassiers d'Angers sont des porte-greffes moins vigoureux que les cognassiers de Provence. Cependant, la différence de vigueur n'est pas la même dans toutes les régions. Dans la région parisienne et l'ouest de la France, cette différence est souvent faible et quelquefois le A d'East Malling est aussi vigoureux ; par contre, dans le Sud-Est et le Sud-Ouest, la différence est très significative. Actuellement, on ne saurait encore dire s'il est préférable de choisir le A d'East Malling comme porte-greffe plutôt qu'un cognassier de Provence dans la région parisienne ou l'ouest de la France. Cependant, certaines observations que nous avons pu faire sur le comportement de quelques-uns de nos clones de cognassiers de Provence en Hollande semblent indiquer que les cognassiers d'Angers sont préférables dans ces régions. Par contre, dans le midi de la France et les régions méditerranéennes, l'emploi des cognassiers de Provence est à conseiller.

Il n'a pas encore été possible d'établir d'une façon précise une gamme de vigueur à l'intérieur des groupes de cognassier. Les différences peuvent être dues à des degrés différents d'affinité entre le porte-greffe et le greffon ou à la présence de virus. Des différences, dues à la vigueur intrinsèque des clones, existent cependant, mais on peut penser qu'elles sont relativement réduites. Il y a peu de chance, par la sélection clonale seule, de mettre en évidence des clones beaucoup plus vigoureux. En effet, il n'est pas certain qu'en prospectant les centres d'origine, on trouve des types plus vigoureux ayant une bonne affinité avec les variétés de Poirier. Parmi les types de cognassiers que nous avons observés, certains originaires de Palestine et les clones E, F et C d'East Malling de vigueur plus grande que celle des cognassiers de Provence, sont incompatibles avec les variétés de Poirier. Sans négliger les possibilités que pourrait offrir l'introduction d'autres types des centres d'origine, l'hybridation entre eux de clones ayant une bonne affinité avec le Poirier nous paraît être une voie plus fructueuse pour obtenir des cognassiers porte-greffes de plus grande vigueur.

Les études de biologie florale que nous avons effectuées ont montré que la pollinisation chez le cognassier est proche de la cléistogamie .La pollinisation est assurée par au moins 90 p. 100 d'autopollen. Les croisements naturels sont donc très peu nombreux et ceux-ci sont très souvent des croisements frère × sœur. En effet, dans une même station, les types en présence sont en général génétiquement très voisins. Ceci expliquerait la gamme de vigueur des souches étudiées.

On peut donc penser que par croisements de clones ayant une bonne affinité avec le Poirier et présentant des différences génétiques assez grandes, on obtienne dans la descendance un niveau d'hétérosis élevé pour la vigueur. Dans ce but, plusieurs croisements ont déjà été réalisés. L'obtention de clones de vigueur intermédiaire entre celle des cognassiers actuels et celle des poiriers francs compléterait avantageusement la gamme des porte-greffes du Poirier.

Reçu pour publication en octobre 1965.

SUMMARY

THE SELECTION OF PEAR-TREES STOCKS IN NATURAL POPULATIONS OF QUINCES-TREES.

II. QUINCES-TREES SELECTION PEAR-TREES STOCKS

The results and methods described in this paper give good informations about rooting ability propagation and nursery behaviour of different clones of quince. Nevertheless, it is yet too early to assess which of them would be the best in orchards trials.

In layering propagation, two clones of Provence quince, C-85-1 and C-144-3, are clearly better than East Malling-quince A. Thirty-nine clones of them produce as much layers as quince A and are significatively better than commercially grown quinces of Provence.

Measures on one-year-old trees have shown the most vigorous associations. The morphological observations of these graft-unions on three-years-old trees have proved good compatibility for some of them with the varietes *Bartlett, Passe-Crassane, Beurré Hardy, Conférence, Alexandrine Douillard.* But, no clone has a good affinity with the varietes *Docteur Jules Guyot* and *Épine du Mas.*

From the results obtained in orchards where trees are now ten-years-old, no Angers-quince is better than East Malling-quince A. On the other hand, three clones of Provence, C-29-L1, C-85-1 and C-98-4, appear now to be better for their growth-rate and their cropping capacity-rate.

From a general point of view, Provence-quince are more vigorous than Angers ones. This difference is smaller in orchards grown near Paris than in orchards grown in the South of France. In this country, Provence-quince should be the best.

Until now, it has not been possible to find a rang for vigour into the different populations of quince. It does exist but it is a narrow one.

The first observations on fertilization of flowers have shown a high level of self pollinisation. Crosses between genetically different clones have been attempted to get more vigorous rootstocks having in mind a high degree of heterosis.

ZUSAMMENFASSUNG

DIE ZÜCHTUNG VON BIRNENUNTERLAGEN IN DEN NATÜRLICHEN POPULATIONEN DES QUITTENBAUMES

II. ZÜCHTUNG VON QUITTENBAUMEN FUR BIRNENUNTERLAGEN

Die in dieser Arbeit beschriebenen Forschungen erlauben gegenwärtig die Fähigkeit der Quittenbaumklone zur vegetativen Vermehrung und deren Vermehren in Baumschulen entscheidend zu beurteilen. Dagegen, sind die in den Versuchsbaumschulen durchgeführten Untersuchungen noch nicht ausreichend, um die besten Klone mit Bestimmtheit zu beurteilen.

Falls das Absenkenverfahren benutzt wird, erweisen zwei Quittenbaumklone aus der Provence : C-85-1 und C-144-3, eine deutliche Ueberlegenheit über dem A von East Malling, und 39 andere erzeugen soviel Absenker wie der letztgenannte, wobei diese Erzeugung diejenige der handelsüblichen Provence-Quittenbäume bedeutend übertrifft.

Die Ausmessung der einjährigen Pfropfreise erlaubte die kräftigsten Kombinationen zu erkennen. Durch die an dreijährigen Stücken durchgeführte anatomische Beobachtung von Verbänden dieser Kombinationen, wurden Klone mit günstiger Verwandschaft zu den Birnbaumsorten *Williams, Passe-Crassane, Beurré Hardy, Conférence, Alexandrine Douillard* (tab. 2) festgestellt. Mit den Sorten : *Dr Jules Guyot* und *Épine du Mas,* wurde dagegen keine günstige Verwandschaft festgestellt.

Auf Grund der in zehnjährigen Versuchsbaumschulen erhaltenen Ergebnissen, hat keiner der Klone des Quittenbaumes von Angers den A von East-Malling übertroffen. Gegenwärtig sind dagegen drei Quittenbaumklone aus der Provence die besten hinsichtlich ihres Wachstums- und Ertragssteigerungskoeffizienten. Es handelt sich um die Klone C-29-L1, C-85-1 und C-98-4.

Allgemein, sind die Provence-Quittenbäume kräftiger als die Angers-Quittenbäume. Dieser Unterschied ist weniger bedeutend im Gebiet um Paris als in Südfrankreich. In diesem letzteren Gebiet sind die Provence-Quittenbäume zu bevornzugen.

Es war noch nicht möglich, innerhalb der einzelnen Gruppen von Quittenbaumen, mit Präzision eine Skala der Veredelungsstücke gemäss ihrer verschiedenen Wirksamkeit aufzustellen. Eine derartige Skala existiert wohl, aber ihr Wert ist vermutlich relativ bescheiden.

Die ersten Beobachtungen betreffend die Blütenbiologie des Quittenbaumes haben einen beträchtlichen Selbstbestäubungsgrad gezeigt. Genetischverschiedene Klone wurden versuchsweise gekreuzt mit dem Ziel, Veredelungsstücke zu erhalten, die dansk ihrer beträchtlichen Heterosis, dem Birnbaum eine erhöhte Aktivität verleihen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BROSSIER J., 1962. La sélection clonale du cognassier porte-greffe du Poirier. *XVI*e *Congr. Intern. Hortic.* Bruxelles, vol. **3**, 54-63.

CHANG W. T., 1937. Studies in incompatibility between stock and scion, with special reference to certain deciduous fruit trees. *J. Pomol.*, **15**, 267-325.

EVANS W. D., MILTON R. J., 1957. Methods of evaluating stock/scion compatibility in apple trees. *Canad. J. Plant Sci.*, **37**, 327-36.

GARNER R. J., 1944. Propagation by cuttings and layers. Recent work and its application with special reference to pome and stone fruits. *Imp. Bureau Hortic. Plant crops.* Tech. com., n° 14.

GARNER R. J., 1948. The nursery behaviour of the *Williams Bon Chrétien* pear when worked upon a wide range of quince-rootstocks. *East Malling Res. Stn. Annu. Rep.* 1947, A31, 65-70.

HATTON R. J., 1920. A first report on quince stocks for pears. *J. roy. hortic. Soc.*, **45**, 269-277.

GUR A., 1957. The compatibility of the pear with quince-rootstocks. *Spec. Bull. Israel Minist. Agric. agric. Res. Stat.*, 10.

HERRERO J., 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinaisons with special reference to hardy fruit trees. *J. hortic. Sci.*, **76**, 186-237.

HERRERO J., 1956 *a*. La compatibilité entre les sujets porte-greffes et les variétés fruitières. *Congr. pomol. intern.*, Namur.

HERRERO J., 1962. Incompatibilidad entre patron e injertos. V. Variedades de cirruelo injertadas sobre *Mirobolan* B. *An. Aula Dei*, **7**, 56-63.

HERRERO J., TABUENCA M. C., 1962. Incompatibilidad entre patron e injerto. VI. Observaciones en uniones de peral sobre membrillero. *An. Aula Dei*, **7**, 64-78.

LAPINS K., 1959. Some symptoms of stock-scion incompatibility of apricot varietes on peach seedling rootstock. *Canad. J. Plant Sci.*, **39**, 194-203.

LUCKWILL L. C., 1958. New developments in the study of graft incompatibility in fruit trees. *XV*e *Cong. Intern. Hortic.*, Nice, vol. 2, 23-27.

MOSSE B., SCARAMUZZI F., 1956. Observations on the nature and development of structural defects in the unions between pear and quince. *J. hortic. Sci.*, **31**, 47-54.

MOSSE B., 1958. Further observations on growth and union structure of double-grafted pear on quince. *J. hortic. Sci.*, **33**, 186-93.

MOSSE B., 1960 *a*. Graft incompatibility in plums : observations on a ten-year-old field trial. *J. hortic. Sci.*, **35**, 260-5.

MOSSE B., 1962. Graft incompatibility in fruit trees. *C. A. B. Technical communication*, n° 28.

RANDHAWA G. S., UPSHALL W. H., 1949. Congeniality of some pear varieties on quince A. *Sci. Agric.* **29**, 490-3.

TYDEMAN H. M., 1948. Description of some quince-rootstocks. *East Malling Res. Stn. Annu. Rep.*, 1947, **59-64**.

TYDEMAN H. M., 1949. Trials with new quince-rootstocks. *East Malling Res. Stn. Annu. Rep.*, 1948, 68-75.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 405-408.

NOTE PRÉLIMINAIRE

MISE EN ÉVIDENCE DE PLUSIEURS RACES DE *FUSARIUM OXYSPORUM* F. *MELONIS*

Georgette RISSER et P. MAS

avec la collaboration technique de J. C. RODE

Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
Station de Pathologie végétale,
Centre de Recherches agronomiques du Sud-Est, Montfavet (Vaucluse)

SOMMAIRE

Des attaques de *Fusarium oxysporum* f. *melonis* ont été observées dans des cultures de melons sélectionnés pour la résistance à ce parasite. L'existence de races physiologiques chez ce champignon a été vérifiée et trois races ont été caractérisées par leur virulence spécifique.

INTRODUCTION

Les premiers travaux réalisés par les Stations de Pathologie végétale et d'Amélioration des Plantes maraîchères de Montfavet (MESSIAEN, RISSER, PÉCAUT, 1962) avaient montré l'existence de plantes résistantes à *Fusarium oxysporum* f. *melonis* (LEACH et CURR) SN. et H., au sein de la variété *Cantaloup Charentais*. La résistance fut attribuée à un gène dominant. La sélection généalogique permit donc d'obtenir facilement des lignées résistantes.

Lors de ce premier travail, les 15 souches de *F. oxysporum* isolées dans diverses régions de culture par MM. MESSIAEN, LANSADE et LOUVET, avaient montré le même pouvoir pathogène et pouvaient être considérées comme appartenant à une même race physiologique. Une de ces souches, A, fut choisie pour réaliser les inoculations artificielles.

La variété *Cantaloup Charentais* étant au départ une population assez hétérogène, les lignées résistantes obtenues par autofécondations différaient par leurs caractères agronomiques et les plus intéressantes furent mises en essai dès 1963 dans les diverses zones de production françaises.

Or en 1964, où une centaine de champs de comportement avaient été mis en place, des flétrissements importants furent observés sur les plantes résistantes dans trois cultures : sous serre à Cavaillon (Vaucluse) sous châssis à Berre (Bouches-du-Rhône) et sous châssis aux Sorinières (Loire-Atlantique).

A partir des plantes flétrissantes de chacune de ces cultures, la Station de Pathologie isola trois souches de *Fusarium oxysporum* V (Cavaillon), B (Berre) et C (Les Sorinières). S'agissait-il de nouvelles races du parasite ou bien la résistance utilisée pouvait-elle ne pas se manifester dans certaines conditions ? Les résultats d'une série d'inoculations artificielles permirent de répondre à cette question.

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

Pour les infections artificielles au stade plantule, les graines sont semées en terrine dans du sable stérilisé. On repique les plantules au stade « 2 cotylédons étalés » dans du sable stérilisé après avoir trempé leurs racines, pendant deux minutes environ, dans une dilution de culture liquide agitée du *Fusarium*. Les terrines arrosées avec une solution minérale sont gardées à une température variant entre 20 et 25°C.

L'infection artificielle des plantes plus âgées a lieu sur des plantes d'environ sept semaines, lors d'un rempotage. On apporte sur le terreau contenu dans des pots de 24 cm, 200 cm³ d'une culture liquide agitée de *Fusarium oxysporum* diluée 5 fois. Les plantes sont alors élevées en serre.

Les variétés témoins utilisées sont le *Cantaloup Charentais T*, lot commercial entièrement sensible à la souche commune A de *Fusarium oxysporum* f. *melonis* et le *Doublon*, lignée de *Cantaloup Charentais* résistante à cette souche A, sélectionnée par la Station d'Amélioration des Plantes maraîchères.

RÉSULTATS

A. *Infection artificielle des lignées résistantes à la souche A*

Les trois nouvelles souches de *F. oxysporum* B, C, et V attaquent en infection artificielle toutes les lignées de *Cantaloup Charentais* sélectionnées antérieurement pour la résistance à la souche commune A. Nous sommes donc bien en présence d'une ou plusieurs nouvelles races.

B. *Symptômes observés lors des infections artificielles*

Lors des infections artificielles la souche B provoque sur *Doublon* des symptômes différents de ceux causés par les souches C et V. Ces deux dernières occasionnent en effet sur *Doublon* des symptômes analogues à ceux provoqués par la souche A sur les variétés sensibles : sur plantules, flétrissement très rapide précédé d'un jaunissement des plantules qui exhalent alors une odeur de chèvrefeuille, puis décomposition de l'axe hypocotylé ; sur plantes plus âgées, on observe également un jaunisse-

ment des feuilles souvent unilatéral, l'émission de l'odeur particulière, puis les feuilles flétrissent, la nécrose atteint la tige qui brunit et meurt ; le système vasculaire est nécrosé et on peut observer des exsudats de gomme ou un feutrage mycélien externe.

La souche B au contraire provoque aussi bien sur plantules que sur plantes plus âgées des flétrissements sans jaunissement préalable, sans odeur particulière ni décomposition rapide de l'axe hypocotylé ou de la tige. Chez les plantes âgées, elle provoque un flétrissement brutal des extrémités de la plante analogue à celui causé par un manque d'eau ; le flétrissement progresse peu à peu vers le bas de la plante qui peut rester vert assez longtemps ; les vaisseaux sont nécrosés.

Ces symptômes se rapprochent de ceux observés sur des plants de Pastèque (*Citrullus vulgaris*) infectés par *F. oxysporum* f. *niveum*, mais dans ce cas le flétrissement de toutes les feuilles est brutal et simultané.

C. *Comportement d'une collection de variétés*

Dans l'espoir de trouver des géniteurs de résistance aux races de *F. oxysporum* nouvellement apparues, 80 variétés de melon formant la collection de la Station d'Amélioration des Plantes maraîchères furent inoculées au stade plantule.

Deux variétés seulement, *Ogon n° 9* (Japon 1963) et *CM* 17 187 (U.S.A., 1947) présentèrent 100 p. 100 de plantes résistantes aux souches C et V. Un certain nombre de variétés montrèrent un mélange de plantes sensibles et de plantes résistantes, ce qui n'a rien d'étonnant étant donné l'hétérogénéité de ces variétés. Les deux variétés *Ogon n° 9* et *CM* 17 187 se montrèrent également résistantes à la souche A.

Par contre aucune des variétés testées ne se montra résistante à la souche B.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Toutes les souches de *Fusarium oxysporum* f. *melonis* isolées à partir de melons flétrissant n'appartiennent pas à la même race physiologique. Nos premiers travaux permettent de les classer provisoirement en trois groupes, qu'on peut différencier grâce à quelques variétés inoculées à un stade précoce. La race 1 comprendrait les souches habituellement isolées à partir des cultures de melons françaises et n'attaquant pas *Doublon*. La race 2 comprendrait les souches (exemple C et V) attaquant *Doublon*, mais non les variétés *Ogon n°* 9 et *CM* 17 187. La race 3 comprendrait les souches attaquant toutes les variétés jusqu'ici testées (exemple souche B).

Variétés	Race 1	Race 2	Race 3
Charentais T	S	S	S
Doublon	R	S	S
Ogon n° 9	R	R	S
CM. 17 187.........	R	R	S

Les variétés américaines dites résistantes à *F. oxysporum* f. *melonis* s'étant montrées extrêmement sensibles aux trois races ainsi définies, ceci laisse présumer l'existence d'autres races au moins aux U.S.A. Notons que jusqu'ici les chercheurs américains n'avaient pu mettre en évidence l'existence de races physiologiques différentes chez *F. oxysporum* f. *melonis* et ne parlaient que de virulence plus ou moins grande des souches (MAC KEEN et WENSLEY, 1962 ; RODRIGUEZ, 1960).

D'assez nombreuses études sont maintenant nécessaires pour compléter ces premiers résultats :

1° Étudier l'importance et la répartition des races 2 et 3 en France (les premiers résultats de 1965 montrent qu'elles semblent peu répandues et que les lignées de *Cantaloup Charentais* résistantes à la race 1 sont actuellement d'un grand intérêt).

2° Rechercher l'existence d'autres races.

3° Étudier les relations de ces races de *F. oxysporum* f. *melonis* avec les autres formes de *F. oxysporum* attaquant les Cucurbitacées.

4° Étudier le déterminisme génétique de la résistance à la race 2 des variétés *Ogon n° 9* et *CM* 17187 et les utiliser pour la création de variétés agronomiquement valables.

Reçu pour publication en septembre 1965.

SUMMARY

Two new races of *Fusarium oxysporum* have been isolated from wilting plants in the muskmelon cultivar Doublon. In artificial infection, they are killing plants of Doublon, that was resistant to french isolates of *Fusarium oxysporum* f. *melouis* isolated previously.

In artificial infection of seedlings, two cultivars Ogon n° 9 and CM 17187, proved to be resistant to one of the two races. None of the 80 varieties tested was resistant to the other.

Specific resistances of seedlings allow us to classify french isolates of *Fusarium oxysporum* f. *melonis* in 3 races:

- Race 1 : Doublon, Ogon n° 9 and CM 17187 are resistant.
- Race 2 : Doublon is susceptible, Ogon n° 9 and CM 17187 are resistant.
- Race 3 : Doublon, Ogon n° 9 and CM 17187 are susceptible.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

MACKEEN C. D., WENSLEY R. N., 1962. Cultural and pathogenic variation in the muskmelon wilt fungus *Fusarium oxysporum* f. *melonis*. *Canad. J. Microbiol.*, t. 8, **5**, 769-784.

MESSIAEN C. M., RISSER G., PÉCAUT P., 1962. Étude des plantes résistantes au *Fusarium oxysporum* f. *melonis* dans la variété de melon *Cantaloup Charentais*. *Ann. Amélior. Plantes*, **12**, 157-164.

RODRIGUEZ R. A., 1960. The nature of resistance in muskmelons to *Fusarium* wilt. *Doctoral dissertation, University of Minnesota*, 1, 90.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 409-412.

NOTE TECHNIQUE

ESSAI DE TECHNIQUES D'HYBRIDATION SUR LAITUE *LACTUCA SATIVA* L.

Annette HLADIK et E. BERNINGER

Station centrale d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

Différents procédés de castration ont été essayés en serre, en préliminaire à un programme d'amélioration des variétés. Au cours de nos travaux, nous avons été frappés par la supériorité en culture de certaines F_1 sur leurs parents, constatation qui rehausse l'intérêt de cette étude. Les expériences ont été réalisées en 1964 à Versailles, avec la variété *Secura*. lignée de la variété de serre *Proeftuin's Blackpool.*

I. CASTRATION MÉCANIQUE

La castration à la main de la quinzaine de fleurs composant un capitule est délicate ; l'intervention n'est possible que pendant une heure environ, le matin. Les manchons staminaux sont retirés un à un à l'aide d'une pince fine, avant que les styles n'aient atteint la partie supérieure des manchons. Un jet d'eau, destiné à faire éclater les grains de pollen restants, peut être appliqué sur le capitule. La pollinisation est effectuée environ une heure après, lorsque les stigmates sont épanouis et secs.

Une quarantaine de croisements entre variétés de serre et de pleine terre ont été faits. Nous rapportons seulement les résultats des croisements dont le parent mâle apporte un gène marqueur net, comme la présence d'anthocyane.

La Laitue étant supposée autogame stricte en serre, les fleurs traitées n'ont pas été isolées sous sachets. Comme le montre le tableau, la castration avec lavage est la plus efficace.

II. — TRAITEMENTS GAMÉTOCIDES

Nous avons cherché à rendre les plantes mâle-stériles par divers traitements.

A. *Pulvérisation de α, β, dichloro-isobutyrate de sodium FW 450 au moment de la floraison*

Un traitement a été fait deux jours après l'apparition des premières fleurs (9 juin), avec les concentrations 3 et 5 p. 1 000 de FW 450 additionné de mouillant.

TABLEAU

Efficacité de différentes techniques de castration et d'hybridation sur la variété Secura (Versailles 1964)

			Nombre de capitules analysés	Nombre de graines hybrides	Nombre de graines auto-fécondées	Pourcentage d'hybrides	Nombre de graines par capitule
I. Castration mécanique	sans apport de pollen		10	—	14	0	1,4*
	avec apport de pollen marqueur	lavage	54	637	22	96	12,2
		sans lavage	6	75	9	89	12,0
II. FW 450 à 5 p. 1 000	sans apport de pollen		12		12	0	1,0
	avec apport de pollen		17	128	13	90	8,3
III. MSE à 2 p. 1 000	avec apport de pollen marqueur		26	75	1	98	3,0
MSE à 3 p. 1 000			8	13	0	100	1,6
SNE à 1,6 p. 1 000	avec apport de pollen marqueur		29	77	16**	83	3,2
SNE à 2,4 p. 1 000			7	19	1	95	2,9
Total			70	184	18	91	2,9***
Témoin *Secura* = Nombre moyen de graines par capitule							14,6

* 7 capitules n'ont donné aucune graine (100 avortements); les 3 autres capitules ont donné respectivement 1, 2, 11 graines et 30 avortements. Les autofécondations accidentelles doivent être attribuées à une castration trop tardive.

** Les 16 autofécondations proviennent de 3 capitules de la même plante.

*** Selon les traitements, nous avons noté :
MSE 2 p. 1 000 peu de pollen fonctionnel, peu de graines (sans apport de pollen extérieur).
MSE 3 p. 1 000 absence de pollen fonctionnel, aucune graine.
SNE 1,6 p. 1 000 peu de pollen fonctionnel, très peu de graines.
SNE 2,4 p. 1 000 absence de pollen fonctionnel, aucune graine.

Le produit était pulvérisé sur chaque plante de façon à mouiller tous les boutons floraux. Aucune réaction nette ne fut notée, la production de graines fut sensiblement normale ; nous ne voyons pas d'explication sûre de cet échec.

Sur une autre série de plantes, un traitement effectué neuf jours après les premières fleurs (16 juin) à la concentration 5 p. 1 000 fut efficace : quelques plantes, montrèrent bientôt des brûlures sur bractées et boutons ; les fleurs étaient anormales, petites, leur anthèse était retardée dans la journée. On a noté un fort pourcentage de pollen non coloré par la safranine glycérinée.

Les apports de pollen marqueur ont été faits les 14^e, 15^e, 16^e et 21^e jours après le traitement, sur des capitules anormaux des plantes touchées.

B. *Traitements mutagènes sur graines*

Nous ne nous sommes intéressés ici qu'à l'un des effets primaires possibles de ces traitements, en négligeant leurs effets secondaires (mutations). Ceux-ci doivent certainement être pris en considération si l'on envisage un travail de sélection dans la descendance d'hybrides obtenus par de tels procédés.

a) *Radiations.*

Des graines des variétés *Reine de Mai de pleine terre, Gotte dorée, Trocadéro à graine noire,* ont été traitées en 1963 aux rayons γ (bombe au cobalt), recevant les doses 9 750, 11 700, 13 650, 15 600 r. Des doses de cet ordre avaient été conseillées par P. DOMMERGUES, et les plus élevées sont proches de la DL 50. Nous n'avons conservé que quelques plantes rescapées des traitements à 13 650 et 15 600 r. Celles-ci ont fleuri et grainé de façon apparemment normale.

b) *Agents chimiques*

Des graines de *Secura* furent trempées dans des solutions de méthane sulfonate d'éthyle (MSE) à 2 et 3 p. 1 000, et de sulfate neutre d'éthyle (SNE) à 1,6 et 2,4 p. 1 000 ; l'immersion dura 24 heures en étuve à 23°C, puis fut suivie d'un lavage de 15 heures. Un essai de germination, en 1963, avait montré que la dose 2,5 p. 1 000 de MSE était inférieure à la DL 50, alors que les doses 2 et 2,5 p. 1 000 de SNE encadraient celle-ci.

En 1964, la floraison des plantes traitées était retardée par rapport à celle des témoins, et 50 à 100 p. 100 du pollen paraissait non fonctionnel (coloration à la safranine glycérinée).

CONCLUSION

La castration à la main, avec lavage à l'eau donne les meilleurs résultats.

Parmi les autres traitements, on remarquera, compte tenu des conditions expérimentales, l'absence d'effet des rayons γ, l'effet gamétocide net, mais accompagné d'une forte stérilité femelle des MSE et SNE, l'intérêt du FW 450 ; mais dans ce dernier cas, l'inconstance des résultats d'une plante à l'autre et d'un rameau à l'autre d'une même plante, souligne la nécessité de préciser les conditions d'emploi du gamétocide.

Pour progresser vers la réalisation d'hybrides F_1 à l'échelle industrielle, il faut également résoudre le problème des agents vecteurs de pollen, les mouches et les abeilles n'étant en général pas attirées par les fleurs de laitue.

Reçu pour publication en septembre 1965

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 413-419.

LA STÉRILITÉ - MÂLE CHEZ LE BLÉ

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

G. SALESSES

Station centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes,
Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise)

I. — LA STÉRILITÉ-MÂLE CYTOPLASMIQUE

A. *Obtention*

La stérilité-mâle fut signalée pour la première fois par KIHARA en 1951, à la suite de l'introduction du génome de *T. vulgare* L. dans le cytoplasme d'*Aegilops caudata* L. Parmi les descendants des rétrocroisements, quelques-uns ressemblaient au blé et présentaient une fertilité partielle.

FUSAKAWA obtint des plantes mâle-stériles en introduisant le génome de *T. durum* dans un *Aegilotricum* qui avait le *cytoplasme d'Aegilops ovata* L. Dans le croisement *Aegilops ovata* (♀) × *T. durum* (♂) il obtint aussi des plantes présentant une stérilité-mâle. L'association du cytoplasme d'*Aegilops ovata* et du génome de *T. durum* semblait être à l'origine de la stérilité-mâle.

WILSON et ROSS (1961) découvrent une deuxième source de stérilité mâle dans un croisement entre *Triticum timopheevi* ZUCK. (parent femelle) et *T. vulgare* variété *Bison*. Par des rétrocroisements continus des plantes à stérilité-mâle par la variété *Bison*, ils retrouvent les lignées hexaploïdes présentant ce caractère.

Les chercheurs soviétiques observèrent des plantes à stérilité mâle dans des croisements interspécifiques entre *T. durum* et *T. vulgare* (N. I. SAVTCHENKO et A. C. LASTOVITCH, 1964).

Actuellement deux sources de stérilité-mâle sont donc connues :

Cytoplasme d'*Aegilops ovata* ;
Cytoplasme de *Triticum timopheevi*.

B. *Observations diverses chez les plantes mâle-stériles*

Morphologiques — Histologiques.

Chez les plantes mâle-stériles les enveloppes florales augmentent de taille et les fleurs restent entrebâillées jusqu'à leur fécondation par l'allopollen.

Les anthères sont atrophiées, de taille plus petite que la normale, de teinte jaune pâle ou blanche. A la base et au sommet de l'épi les anthères sont de forme effilée tandis qu'à la partie moyenne de l'épi elles sont plus épaisses ; dans tous les cas, le pollen qu'elles contiennent est avorté (SAVTCHENKO, 1964).

Les plantes à stérilité-mâle présentent un retard de végétation, une réduction de hauteur, des panachures chlorophylliennes et des stomates anormaux (FUSAKAWA, 1959). Cet auteur étudia plus spécialement les stomates chez ces plantes. Ils se rencontrent surtout sur les

feuilles bigarrées et peuvent être classés en se référant à deux critères : degré de différenciation des cellules de garde et leur noyau et caractère anormal ou déficience des cellules subsidiaires. L'observation d'une coupe transversale révèle que l'espace d'air intérieur des stomates anormaux était plus restreint que celui des stomates normaux. D'autre part, les cellules palissadiques des feuilles bigarrées sont moins rondes et disposées irrégulièrement. La fréquence de ces stomates semble diminuer de 30 à 0,2 p. 100 au cours de la phase de maturité.

Ces observations laissent à penser qu'un facteur cytoplasmique inconnu induit un métabolisme anormal dans les feuilles de la plante jeune, amenant une malformation des stomates. La bigarrure chlorophyllienne semble liée à la présence de ces stomates.

Biochimiques.

Des analyses chromatographiques d'acides aminés libres et de sucre dans les anthères de *T. durum* mâle-stérile révèlent une disparition de proline et une accumulation très nette d'asparagine pendant la dégénérescence du pollen. On observe aussi dans les anthères une déficience en saccharose.

D'après ANDERSON le mécanisme de stérilité agit dans le sporophyte femelle ; les cellules du tapetum ne produisent pas d'ARN ou autres substances capitales, ou si elles en produisent, ces substances ne sont pas transmises aux microspores en développement. Cette déficience se produirait peu après la formation des tétrades.

Cytologiques.

Les études ont surtout porté sur la microsporogenèse. Dans tous les cas le pollen semble contenir une quantité normale de cytoplasme.

Les études dévoilent le caractère régulier des diverses phases de la méïose ; la dégénérescence des microspores commence après leur libération de l'enveloppe de la cellule-mère. Le grain de pollen reste alors uninucléé, sans formation de noyau reproducteur.

Cytogénétiques.

L'étude du caractère héréditaire de la stérilité et la régularité du caractère normal de la méïose confirment le déterminisme cytoplasmique de la stérilité-mâle chez le blé. C'est ce que montrent les études suivantes de FUSAKAWA.

— après substitution chez *Aegilops ovata,* normale, du génome de *T. durum* à celui d'*Aegilops ovata,* les plantes à 14 bivalents obtenues, deviennent totalement mâle-stériles.

— à partir de l'amphidiploïde synthétisé (*durum* ♀ × *ovata* ♂) on réalise la restauration des génomes de *durum* : tous les descendants à 14 bivalents présentent une fertilité mâle normale.

— le génome d'*ovata* fut replacé dans le cytoplasme de plantes mâle-stériles *T. durum* : tous les individus à 14 bivalents ont alors une fertilité pollinique totale.

— après introduction du génome d'*ovata* dans le cytoplasme de *T. durum,* normal, la plupart des plantes à 14 bivalents montrent une fertilité pollinique normale.

Le facteur mâle-stérile peut venir du cytoplasme d'*ovata* ; *Aegilops ovata* possède un certain gène inactivant le facteur mâle-stérile.

C. *Existence de gènes de restauration de fertilité*

Quelques plantes à cytoplasme d'*Aegilops ovata* et génome de *T. durum* ayant un chromosome surnuméraire d'*Aegilops ovata* et 14 bivalents de *T. durum,* présentent une fertilité normale. L'agent restaurant la fertilité agit dans les cellules somatiques et non dans les microspores (FUSAKAWA).

On observe aussi une restauration en croisant *T. durum* mâle-stérile par *Triticum dicoccoïdes* : la descendance à fertilité rétablie présentait 1 tétravalent et 12 bivalents.

Selon FUSAKAWA la restauration dépend de deux ou plusieurs gènes.

WILSON et ROSS étudièrent 124 hybrides réalisés à partir d'un blé hexaploïde mâle-stérile (*Aeg. ovata-T. durum*^{n}) — *T. compactum*^{s} × *T. aestivum* var. *Norin* (26)^{2} après utilisation de plusieurs pollinisateurs. La fertilité des F_1, des rétrocroisements et des F_2 fut observée par coloration du pollen par l'iode, examen des anthères et récolte en grains. La plupart des hybrides étaient stériles. Pour les blés d'hiver on a pu ainsi mettre en évidence un facteur de restauration partielle chez la variété *Kawvale.*

La présence de gènes de restauration chez les blés tétraploïdes indique que la restauration chez les types hexaploïdes peut être obtenue à moins que le génome D exerce un effet épistatique.

Du fait de l'homologie des chromosomes parmi les blés ayant les génomes A B, et la facilité des croisements, une introgression du caractère de restauration semble possible.

Les lignées de substitution des blés tétraploïdes ayant le cytoplasme d'*Aegilops ovata* obtenues par KIHARA étaient toutes mâle-stériles.

Aucun gène de restauration ne fut trouvé parmi les blés tétraploïdes dont disposait l'auteur. Celui-ci conclut à l'impossibilité d'échanges de chromosomes entre deux génomes différant au niveau di- ou tétraploïde ; s'il existe une possibilité, elle est très difficile à réaliser.

Une analyse génétique réalisée par TSUNEWAKI à partir des lignées de substitution obtenues

par KIHARA, a pu montrer que *Triticum aestivum vulgare* et *T. aestivum compactum* différaient par un seul gène pour le caractère « restorer » (*T. vulgare* ms ms ; *T. compactum* *M*s *M*s).

Les fertilités moyennes des trois génotypes furent estimées :

51,5 ± 21,8 % pour M*s* M*s*
1,4 ± 1,7 % pour M*s* *ms*
0,0 % pour *ms ms*

Au cours des premières observations on a pu noter que les blés ayant le cytoplasme d'*Aegilops ovata* présentaient un retard de maturation. Ceci semblait une limite à l'utilisation du cytoplasme d'*Aegilops ovata*. Cependant on a pu obtenir des hybrides à maturité normale.

Au cours d'un rétrocroisement (*T. timopheevi* × *Marquis*^{3}) on a observé dans la F_2 une plante possédant les gènes de restauration. Un croisement fut réalisé entre *Bison* mâle-stérile et cette plante : l'observation des F_1, F_2 et rétrocroisements par *Bison*, montre que le caractère de restauration est dominant et sous la dépendance de deux gènes (R. W. LIVERS, 1964). Les deux gènes dominants seraient présents à l'état homozygote chez les plantes restaurant la fertilité chez les variétés mâle-stériles à cytoplasme de *T. timopheevi*. La variété *Bison* mâle-stérile serait récessive pour les deux gènes de restauration. En F_2 certaines plantes présentent une fertilité partielle; ces plantes n'auraient à l'état dominant qu'un gène de restauration.

WILSON pense qu'il existe au moins deux facteurs contrôlant la restauration, mais qu'il peut y avoir une série de gènes de restauration, chez *T. timopheevi*, qui diffèrent dans leur degré d'efficacité. Les actions des gènes de restauration sont dominantes et cumulatives.

Un tel déterminisme génétique bifactoriel du caractère de restauration rend possible le transfert des gènes de restauration à des variétés de bonne valeur agronomique susceptibles d'être utilisées dans un programme de création d'hybrides F_1.

Des résultats obtenus par ANDERSON confirment l'existence de deux gènes majeurs : l'un des deux peut être de peu d'efficacité dans certaines conditions de milieu : ceci peut poser des problèmes dans un programme réalisé en serre.

Triticum timopheevi porte les génomes A et B et provient très probablement d'un ancêtre du type *diccocoïdes*. FUSAKAWA a restauré la fertilité de *T. vulgare* var. *Khapli*, mâle-stérile à cytoplasme d'*Aegilops ovata*, en croisant par *T. diccocoïdes*. Ce système « restorer » de *T. diccocoïdes* pourrait être identique à celui de *timopheevi*. Dans cette éventualité le système « restorer » de *timopheevi* pourrait restaurer la fertilité dans le matériel issu d'*Aegilops ovata*.

D. *Le matériel dont on dispose*

Les lignées mâle-stériles et restaurant la fertilité proviennent de stations américaines.

Les lignées mâle-stériles sont synthétisées à partir du cytoplasme de *T. timopheevi*.

Une grande importance doit être donnée au matériel « restorer » .

Certaines lignées possèdent les deux gènes de restauration :

— (*T. timopheevi* × *Marquis*^{3}) × *Bison*, de type printemps (WILSON).

— (*1279 A 9-III-4* × *Nebred*) × *Bison*^{2} de type hiver, lot 1 de SCHMIDT et JOHNSON.

D'autres ne possèdent qu'un seul gène :

— (*1279 A 9-III-4* × *Nebred*) × *Bison*^{2} lot 2 de SCHMIDT et JOHNSON.

II. — UTILISATION DE LA STÉRILITÉ-MALE CYTOPLASMIQUE

La stérilité mâle cytoplasmique pourrait présenter un réel intérêt dans la réalisation commerciale d'hybrides F_1 exploitant le phénomène d'hétérosis.

La réalisation et l'utilisation de lignées mâle-stériles impliquent la connaissance du phénomène de la stérilité mâle cytoplasmique et du déterminisme génétique de la restauration de fertilité.

Plusieurs problèmes sont à envisager :

1° Existence du phénomène d'hétérosis chez le Blé.

2° Mise au point de méthodes pour juger les parents aptes à donner les meilleurs hybrides.

3° Nécessité d'une fécondation croisée suffisante.

A. *Manifestation de vigueur hybride*

Ces études furent réalisées, le plus souvent pour prévoir la valeur des croisements à partir de la F_1.

Les premières observations dues à FREEMAN remontent à 1919 pour des croisements entre blés durs et blés tendres. Après lui de nombreux auteurs ont pu décrire des manifestations de vigueur hybride.

Nous ne citerons que quelques observations parmi les plus récentes :

— SKURYGINA (1958) indique que les F_1 issues d'un croisement entre blé tendre et *T. timopheevi* dépassent l'espèce parente pour capacité de tallage et hauteur des plantes. L'auteur notait aussi une stérilité des hybrides.

— SIKKA et *al.* (1959) après de nombreuses études de F_1, F_2 et F_3 concluent que les performances de F_1 pour le nombre de grains par épi, le poids du grain, la longueur de l'épi, la hauteur de la plante et la date d'épiaison pouvaient être utilisées, mais de façon prudente, pour prévoir les performances de générations ultérieures.

— STUBER et *al.* (1962) observent que les F_1, F_2 et populations issues de rétrocroisements, pour un croisement entre *Wichita* et *Atlas 66* dépassaient les parents pour le rendement en grain grâce à une augmentation du nombre de talles-épis.

— BRIGGLE, DAUM et STEVENS (1964) ont étudié la manifestation d'hétérosis pour deux croisements entre blés tendres : (*Blackhawk* × *Kharkof*) et (*Wabash* × *Purkof*). Les croisements ont été réalisés selon deux méthodes : pollinisation manuelle de plantes castrées et pollinisation par approche.

L'essai fut réalisé selon une disposition *split-plot* à 10 répétitions, les sous-parcelles étant constituées de 2 poquets pour les parents et de 1 poquet pour chaque F_1, la parcelle comprenant l'ensemble de 3 sous-parcelles, les poquets contenant 1, 2 ou 4 semences selon les parcelles.

Les résultats concernent diverses composantes du rendement. Il existe une interaction entre nombre de plantes par poquet et certaines des composantes.

Un effet d'hétérosis a pu être mis en évidence pour le croisement (*Blackhawk* × *Kharkof*) pour les composantes suivantes : poids de grain par épi, nombre de grains par épi, poids de 1 000 grains et hauteur des plantes. Pour le croisement (*Wabash* × *Purkof*) le seul effet observé concerne le poids de 1 000 grains.

— NORMAN E. BORLAUG enfin, signale que 23 des 255 hybrides expérimentaux qu'il a étudiés présentent un effet d'hétérosis de 18 à 30 p. 100. Pour le rendement l'effet le plus net atteint 43 p. 100 du meilleur parent. Ces essais furent réalisés en condition d'irrigation.

L'ensemble des résultats obtenus depuis 1919 semble montrer qu'il existe chez le blé des phénomènes d'hétérosis. Les différences observées entre plusieurs croisements prouvent que certains sont plus aptes que d'autres à produire une vigueur hybride. Le phénomène n'étant pas général, un choix des lignées parentes s'impose.

B. *Tests d'aptitude à la combinaison*

Peu de travaux ont été réalisés en vue de juger l'aptitude à la combinaison chez le blé. Ces tests seront facilités par le fait que les variétés cultivées pouvant présenter un intérêt dans un programme de création de semences hybrides sont des lignées pures.

W. E. KRONSTAD (1963-64) réalisa des croisements diallèles avec 10 parents en vue d'obtenir une estimation de l'aptitude à la combinaison et du mode d'action des gènes contribuant au rendement. Le mode d'action des gènes fut étudié d'une part par analyse diallèle, d'autre part par calcul de l'héritabilité (régression parents-descendants). Les caractères morphologiques étudiés étaient les suivants : rendement total par plante, poids du grain, nombre de grains par épillet, nombre d'épillets par épi, nombre d'épis par plante et hauteur des plantes. Une large part de la variation génétique totale associée aux composantes du rendement, poids du grain, nombre de grains par épillet, nombre d'épillets par épi, d'épis par plante, résultait d'une action additive des gènes. L'effet direct le plus net sur le rendement est celui qui résulte du nombre de grains par épillet. Une corrélation négative a été mise en évidence entre nombre d'épis par plante, poids du grain et nombre de grains par épillet. Ces résultats indiquent l'existence probable d'une limite biologique résultant de phénomènes de compensation entre plusieurs composantes du rendement.

L'analyse diallèle pour l'aptitude à la combinaison générale et spécifique donne des estimations du mode d'action des gènes semblables à celles fournies par les calculs d'héritabilité.

C. *Hypothèse concernant le phénomène d'hétérosis chez les autogames*

Nous avons vu que l'hétérosis se manifeste dans des croisements entre lignées différentes. Les combinaisons létales dues à des gènes récessifs défavorables sont éliminées chez les autogames par sélection naturelle ou artificielle. L'effet d'inbreeding n'existe pratiquement pas chez les auto-

games : cela s'explique si on admet que la cause en est, chez les allogames, la fixation de gènes défavorables à l'état homozygote au cours des cycles d'autofécondation. Ces récessifs défavorables se maintiennent, masqués par les dominants à une fréquence d'équilibre dans les populations allogames.

Dans les populations autogames s'accumulent en plus grande partie des gènes favorables qui sont soit dominants, soit récessifs, soit manquant d'interaction allélique forte. La dominance aurait donc peu de signification évolutive chez les autoganes ; on ne doit donc pas attendre une prépondérance de gènes dominants favorables qui d'ailleurs n'auraient pas de « signification adaptative » pour des combinaisons hétérozygotes favorables. La dominance, chez les autogames, doit donc jouer un rôle moindre que chez les allogames.

On a pu penser que la vigueur hybride chez les plantes autogames était une manifestation fortuite, un « accident évolutif » causant une croissance luxuriante (DOBZANSKY, 1950).

Les résultats obtenus chez le blé et autres espèces autogames (orge, aubergine, tomate, soja) montrent pourtant que la vigueur hybride est caractéristique des hybrides de première génération. Ce résultat mérite une explication génétique : les espèces autogames sont purgées des gènes défavorables par la sélection. Dans une espèce, les différentes variétés ont accumulé divers allèles contrôlant des actions non opposées mais différentes physiologiquement. Une combinaison d'allèles divergents, en condition hétérozygote peut fréquemment réaliser, comme EAST l'a suggéré une manière de produire un conditionnement physiologique efficace (H. H. SMITH). Physiologiquement cela s'exprime chez l'hybride par une croissance plus vigoureuse que la moyenne des homozygotes.

D. *Problèmes posés par la nécessité d'un taux suffisant de fécondation croisée*

Pour la production de semences hybrides il est nécessaire d'avoir un taux de fécondation croisée suffisant. Pour le blé, le taux d'allogamie, dans les variétés cultivées, est faible, mais il peut varier avec les conditions externes : ainsi LEIGHTY et TAYLORS établirent en 1917 qu'il se produisait jusqu'à 34 p. 100 de croisements naturels dans une lignée de *Fulcaster*. Des observations identiques portent sur *Nebraska* et *Kanred*.

WILSON et ROSS (1962) ont réalisé des études portant sur des lignées mâle-stériles pour essayer de résoudre les problèmes de pollinisation et de production de semences hybrides chez le blé. L'hybride *Quivira* est utilisé comme parent mâle dans l'étude de la production de grains par un mâle-stérile. La disposition en champ consistait en une alternance de mâles et de femelles au taux de 3 ♀1 ♂, 2 ♀1 ♂ et 1 ♂1 ♀, avec 7 répétitions pour chaque taux. Pour une bonne coïncide entre la maturité des ovules et la floraison des pollinisateurs, les plantes mâle-stériles étaient vernalisées et cultivées en serre puis transplantées en champ selon les divers taux prévus et à des distances diverses du pollinisateur.

Résultats : un nombre supérieur de grains fut obtenu sur les plantes mâle-stériles fleurissant approximativement le même jour que les pollinisateurs. Le lot de grains était équivalent pour les trois taux étudiés mais une baisse nette se produisait quand l'aire occupée par le pollinisateur diminuait et que la distance aux pollinisateurs augmentait.

Il ressort de ces études que la quantité de pollen n'est pas un facteur limitant de la récolte en grains. Des facteurs externes pourraient avoir des effets importants : ainsi des températures fraîches peuvent agir sur la longévité de réceptivité du stigmate et de l'état fonctionnel du pollen, tandis que des températures trop élevées peuvent diminuer l'ouverture des fleurs et limiter ainsi la dissémination du pollen.

Des observations faites à Versailles sur la variété *Bison* mâle-stérile montrent que la pollinisation par l'allopollen a lieu plus tard que l'autofécondation sur la variété normale ; en effet, sur la variété mâle-stérile les enveloppes florales s'entrebâillent seulement après la période correspondant à l'autofécondation chez la variété normale.

On devra tenir compte de ce décalage pour réaliser les croisements entre deux variétés qui, normalement, présentent une précocité identique.

De récentes études furent réalisées par K. B. PORTER, KEITH A. LAHR et I. M. ATKINS afin de comparer les taux de fécondation croisée obtenus à partir de plantes mâle-stériles ayant le cytoplasme d'*Aegilops ovata* ou d'*Aegilops caudata*. Celles qui ont le cytoplasme d'*Aegilops caudata* peuvent présenter une légère stérilité femelle. Les autres possédant le cytoplasme d'*Aegilops ovata* présentent une floraison retardée. Ces inconvénients ne semblent pas exister chez les mâle-stériles à cytoplasme de *T. timopheevi*.

Ces premiers essais montrent l'importance que peuvent avoir les conditions extérieures sur la dissémination du pollen. Elles mettent aussi en évidence de nombreux facteurs pouvant agir sur la fécondation croisée.

La possibilité d'utiliser les F_2 simplifierait le problème : en effet, la production maximum de grains F_2 pourrait être réalisée par un semis clair et précoce des grains F_1 ; d'autre part, si la restauration pollinique est contrôlée par des gènes dominants, la majorité des plantes F_2 serait mâle-fertile et pourrait polliniser les plantes restant stériles dans la population. L'utilisation des F_2 sera possible seulement si l'hybride F_1 présente un effet très fort d'hétérosis.

CONCLUSION

La réalisation de semences hybrides F_1 chez le blé représente un long programme. Elle nécessite :

— le tri des variétés pour l'aptitude à la combinaison,

— l'obtention de lignées sous les deux formes, mâle-stériles et restauratrices de fertilité,

— la mise au point de dispositions permettant un taux suffisant de fécondation croisée.

La réalisation d'hybrides F_1 représente actuellement la solution qui permettrait peut-être d'obtenir de nets progrès en matière de rendement. Elle permettra l'obtention rapide et sûre de variétés résistantes à des parasites ou à des accidents climatiques dans les cas assez fréquents où les gènes de résistance sont dominants.

Reçu pour publication en septembre 1965.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANDERSON R. G., 1964. The mecanism of sterility and fertility restoration in wheat. In *Hybrid Wheat Seminar Report Minneapolis-Minnesota* (30 janv. 1964), 23-26.

BORLAUG N. E., 1965. Research progress in hybrid wheat. In *Report of the wheat quality conference. Minneapolis,* Minnesota, 27 janv. 1965, p. 47.

BRIGGLE L. W., 1963. Heterosis in wheat A review. *Crop Sci.*, **3**, 407-412.

BRIGGLE L. W., 1964. Hybrid wheat : what it means to wheat production. *Cereal Sci. To day*, **9**, 59-62.

BRIGGLE L. W., 1964. Expression of heterosis in two wheat crosses. *Crop. Sci.*, **4**, 220-222.

EAST E. M., HAYES H. K., 1912. Heterosigosis in evolution and in plant breeding U. S. D. A. *Bureau, Plant. Industr. Bull.*, 243.

FUSAKAWA H., 1953. Studies on restoration and substitution of nucleus of *Aegilotricum* I. Appearance of male-sterile *durum* in substitution crosses. *Cytologia*, **18**, 167-175.

FUSAKAWA H., 1965. Studies on restoration and substitution of nucleus (genome) in *Aegilotricum.* II. The interrelationships between *ovata* cytoplasm and fertility restoration factors. *Cytologia*, **20**, 211-217.

FUSAKAWA H., 1958. Fertility restoration of cytoplasmic male-sterile *Emmer* wheat. *Wheat Inform. Serv.*, **7**, p. 21.

KIHARA H., 1951. Substitution of nucleus and its effects on genome manifestations. *Cytologia*, **16**, 177-193.

KIHARA H., 1963. Nucleus and chromosomes substitution in wheat and *Aegilops.* II. Chromosome substitution. *Seiken Ziho*, **15**, 13-23 in *Wheat Abstract*, **3**, 3, p. 127.

KRONSTAD W. E., 1964. Combining ability and gene action estimates and the association of the components of yield in winter wheat crosses. These, Oregon State University, in *Dissertation Abstr.*, **24**, 8, 3065-3066.

LIVERS R. W., 1964. Fertility restoration and its inheritance in cytoplasmic male-sterile wheat. *Science*, **144**, p. 420.

PORTER K. B. et *al.*, 1965. Cross-pollination of male-sterile winter wheat (*Triticum aestivum* L.) having *Aegilops candata* L and. *Aegilops ovata* L. cytoplasm. *Crop Sci.*, **5**, 161-163.

SAVTCHENKO N. I., LASTOVITCH A. C., 1964. Étude et utilisation de la stérilité mâle chez le blé d'hiver (en russe). *Agrobiologia* (URSS), n° 2 (146), 243-249.

SIKKA F. M. et *al.*, 1959. Evaluation of the potentialities of wheat crosses based on mean parental and early generations values. *Indian J. Genet. Plant. Breed.*, **19**, 150-170.

SKURYGINA N. A., 1958. Hybridization of soft wheat with *Triticum timopheevi*, ZHUKC. Trud. priklad. Bot. Genet. Seleckc, Šborn Puškinskih Lab. (*Bull. appl. Bot. Geir. Pl. Breed. Works of Puskin Lab.*), n° 1 : 134-39 (en russe) in *Plant. Breed. Abstr.*, **30**, p. 731.

SMITH H. H., 1952. Fixing transgressive vigor in *Nicotiana rustica*, in « Heterosis » Gowen. J. W., Iowa State College Press Amer., 161-174.

STUBER C. W. et *al.*, 1962. Grain protein content and its relationship to other plant and seed characters in the parents and progeny of a cross of *Triticum aestivum* L. *Crop Sci.*, **2**, 506-508.

TSUNEWAKI K., 1963. Analysis of fertility restoring gene in *Triticum aestivum* ssp. *compactum*. *Seiken Ziho* (15), 47-53 in *Wheat Abstr.*, **3**, 3, p. 128.

WILSON J. A., 1964. Mecanism of sterility and restoration. *In Hybrid Wheat Seminar Report, Minneapolis Minnesota* (30 janv. 1964), p. 22.

WILSON J. A., ROSS W. M., 1961. Cross breeding in wheat *Triticum aestivum*. I. Frequency of the pollen restoring caracters in hybrid wheat having *Aegilops ovata* cytoplasm. *Crop Sci.*, **1**, 191-193.

WILSON J. A., ROSS W. M., 1962. Cross breeding in wheat, *Triticum aestivum* L. II. Hybrid seed set on a cytoplasmic male-sterile winter wheat composite subjected to cross pollination. *Crop Sci.*, **2**, 415-417.

WILSON J. A., ROSS W. M., 1962. Male-sterile interaction of the *Triticum aestivum* nucleus and *triticum timopheevi* cytoplasm. *Wheat Inform. Serv.*, **14**, 29-30.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4), 421-422.

CHRONIQUE DES LIVRES

EDWARD GURR. — THE RATIONAL USE OF DYES IN BIOLOGY, AND GENERAL STAINING METHODS. Leonard HILL Ed., London, 1965, 422 p.

A lui seul le titre de cet ouvrage mérite une attention particulière. Aucun des manuels publiés jusqu'ici n'a présenté les techniques de coloration en microscopie autrement que comme un ensemble de recettes où la raison n'avait pas grande part. L'auteur rassemble ici dans une première partie un ensemble de notions physico-chimiques sur les actions et interactions des substances employées dans les techniques de coloration et propose une nouvelle classification des colorants synthétiques utilisés en biologie. Une deuxième partie présente en 200 pages des méthodes de coloration (empiriques et rationnelles, précise l'auteur) cytologiques, histologiques et histochimiques dont la présentation est extrêmement satisfaisante. La liste des solutions nécessaires précède, pour chaque technique, les modalités pratiques d'exécution ; à la suite sont indiqués les résultats de la technique, les références bibliographiques et finalement des précisions et commentaires extrêmement précieux de l'auteur. Des données sur les propriétés physico-chimiques des colorants usuels sont réunies dans un appendice (3e partie) avec un certain nombre de recettes de base et des exemples de synthèses de colorants. Enfin, pour la plus grande commodité de l'utilisateur, cet ouvrage se termine par la liste des références bibliographiques et par un double index : auteurs d'une part, techniques et colorants d'autre part.

Ce livre est d'un intérêt certain pour tous les utilisateurs des colorants en biologie. Notons aussi que, s'il constitue un recueil complet en soi, il est aussi dans l'esprit de l'auteur un complément à son ouvrage précédent : *Staining animal tissues, practical and theoretical.*

S. E.

ROBERT A. NILAN. — THE CYTOLOGY AND GENETICS OF BARLEY, 1951-1962. Monographic supplement no 3. Research studies. Washington State University. Vol. 32, no 1, mars 1964.

Cet ouvrage prend le relai de la mise au point de L. SMITH : *Cytology and genetics of barley* (Botan. Rev., 17, 1951). La stricte description cytologique y a fort peu de place, sans doute parce que la caryologie de l'Orge, ailleurs que dans la caryologie comparée des formes sauvages, a enregistré peu de nouveautés entre temps. Mais les découvertes significatives effectuées en cytologie cytoplasmique par BUVAT, JANSEN et MAC LAREN avec l'Orge comme matériel auraient pu être mentionnées.

Cette remarque de principe faite, il faut saluer l'ampleur de la synthèse réalisée ici : plus de deux milles publications ont été revisées ; environ treize cents sont données en référence. Le dépouillement des travaux japonais est éminemment précieux. R. A. NILAN semblait particulièrement désigné à cette entreprise : spécialiste en mutagenèse, l'étendue de sa compétence s'explique par la nature des caractères génétiques les plus récemment recensés chez l'Orge.

En effet, si le nombre de caractères génétiques (370) connus chez l'Orge a plus que doublé en dix ans c'est autant à la suite de plus nombreuses analyses de croisements que par l'utilisation de l'Orge comme matériel de choix en mutagenèse expérimentale. Le nombre élevé de « chlorophylliens » (40) et d'*érectoïdes* équilibrent presque, ensemble, celui des gênes repérés dans l'étude des résistances à toutes les maladies.

L'auteur a fait mieux qu'un catalogue de cette importante moisson de symboles géniques. Deux séries de tableaux et une série de diagrammes suffisent peut-être à réunir listes de gènes et cartes chromosomiques. Mais dans le texte la génétique formelle est souvent suivie de données physiologiques, biochimiques ou sur l'intérêt des mécanismes évoqués pour le sélectionneur ; à cet égard l'absence d'index analytique est un point faible de l'ouvrage.

Cette publication aura donc une double audience.

Au cytogénéticien, et surtout au « mutationniste », elle apporte l'étude nourrie des sources des variations héréditaires induites. L'interprétation de leurs effets est chaque fois discutée. Le bilan de la mutagenèse chimique est particulièrement important, compte tenu de l'état des choses en 1951.

Au généticien, au sélectionneur, elle apporte la documentation nécessaire à l'utilisation des interactions des caractères connus. La conception des croisements, le dosage des pressions de sélection doivent en bénéficier. Signalons la mise au point sur la génétique de la résistance à l'oïdium. L'auteur y souligne la valeur de la conception « un gène contre un gène » dans les progrès de la lutte génétique contre les maladies.

En résumé il y a là une monographie essentielle pour le biologiste et l'améliorateur en raison du rôle pilote qu'assument en de nombreux secteurs les recherches cytologiques et génétiques chez l'Orge.

L. D.

Ann. Amélior. Plantes, 1965, **15** (4) 423-425.

TABLES DES MATIÈRES DE L'ANNÉE 1965

H. BANNEROT. — Résultats de l'infection d'une collection de Haricots par six races physiologiques d'Anthracnose 201

E. BERNINGER. — Contribution à l'étude de la stérilité-mâle de l'Oignon (*Allium cepa* L.) 183

J. BERTHAUT. — Obtention de trèfles violets tétraploïdes. Quelques essais d'amélioration des techniques de dédoublement 37

J. BROSSIER. — La sélection des porte-greffes du Poirier dans les populations naturelles de Cognassiers.

I. — Étude des populations naturelles de Cognassiers 263

II. — Sélection de Cognassier porte-greffes du Poirier 373

Yvonne CAUDERON. — Analyses cytologiques d'hybrides entre *Helianthus tuberosus* et *H. annuus*. Conséquence en matière de sélection 243

R. COUSIN. — Étude de la sensibilité des variétés de Pois au virus de la mosaïque commune du Pois. Étude génétique de la résistance 23

R. COUSIN. — Étude de la résistance à l'Oïdium chez le Pois 93

H. DULIEU. — Réactions morphologiques des plantules de *Nicotiana tabacum* L. et de *Nicotiana glutinosa* L. au traitement des graines par le méthane sulfonate d'éthyle. Conséquences sur l'apparition de mutations chlorophylliennes somatiques 359

S. ESSAD, H. CACHON. — Recherches préliminaires sur Orge pour une tentative d'amélioration des traitements par la colchicine 5

J. GILLOT, P. DOMMERGUES. — Corrélations entre le mutagenèse, l'organogenèse et la précocité chez le Blé. Observations préliminaires 339

C. GOUJON. — Note sur l'hérédité de la résistance de neuf variétés de Blé tendre à *Erysiphe graminis* D.C 237

H. HESLOT. — Les mécanismes moléculaires de la mutagenèse et la nature des mutations 111

B. JULLIARD, J. BALTHAZARD. — Effets physiologiques de l'acide gibbérellique sur quelques variétés de Vigne (*Vitis vinifera* L.) 61

Nicole MAIA, R. ÉCOCHARD. — Analyse monosomique de la résistance à la Rouille noire (*Puccinia graminis tritici* var. race 21) de la variété de blé tendre *Kenya farmer* 351

P. MANSAT. — Variations de la longueur de la tige et réalisation d'un stade de développement chez les Graminées fourragères 53

M. RIVES. — La germination des graines de Vigne. I. — Essai préliminaire 79

Georgette SANFOURCHE. — La pollinisation des variétés de cerises douces (*Prunus avium*)........ 223

R. WAGNER. — Sélection progressive de variables utilisant la statistique D^2 de Mahalanobis. Application à la détermination de la meilleure fonction discriminante séparant deux populations de semis de Vigne......... 159

Notes techniques.

Annette HLADICK, E. BERNINGER. — Essai de techniques d'hybridation sur laitue *Lactuca sativa* L.......... 409

J. PICARD, J. BERTHAUT. — Le manque de fertilité chez le Trèfle violet autotétraploïde.......... 327

Note préliminaire

Georgette RISSER, P. MAS. — Mise en évidence de plusieurs races de *Fusarium oxysporum* f. *melonis*.......... 405

Mise au point bibliographique.

R. MONET. — Caractères à déterminisme génétique simple chez *Prunus persica* STOKES.......... 99

Revue bibliographique.

G. SALESSES. — La stérilité-mâle chez le Blé.......... 413

Chronique des livres.......... 241
423

CONTENTS

H. BANNEROT. — The results of infection of a collection of beans by six physiological strains of Anthracnose.......... 201

E. BERNINGER. — Contribution to the study of male sterility in the Onion (*Allium cepa* L.).......... 183

J. BROSSIER. — The selection of Pear-tree stocks in natural populations of Quince-trees :

I. — The study of natural populations of Quince-trees.......... 263

II. — Quince-trees selection Pear-trees stocks.......... 373

Yvonne CAUDERON. — Cytogenetic analysis of hybrids between *Helianthus tuberosus* and *H. annuus*. Consequences for selection.......... 243

R. COUSIN. — Study of the sensibility of Pea varieties to common mosaic virus. Genetic study of resistance.......... 23

R. COUSIN. — A study of Oïdium resistance in Peas.......... 93

H. DULIEU. — Morphological reactions of the plantlets of *Nicotiana tabacum* L. and *Nicotiana glutinosa* L. to treatment of seeds with ethyl methanesulfonate. Consequences on the apppearance of somatic chlorophyll mutations.......... 359

S. ESSAD, H. CACHON. — Preliminary studies on Barley for the improvement of colchicine treatments 5

J. GILLOT, P. DOMMERGUES. — Correlation between mutagenesis, organogenesis and precocity in Wheat. Preliminary investigations 339

C. GOUJON. — Note on the heredity of the resistance of nine varieties of soft wheat to *Erysiphe graminis* D.C. 237

H. HESLOT. — Molecular mechanisms of mutagenesis and the nature of mutations 111

B. JULLIARD, J. BALTHAZARD. — Influence of gibberellin on some varieties of *Vitis vinifera* L. 61

Nicole MAIA, R. ECOCHARD. — Monosomic analysis of the resistance to stem rust (*Puccinia graminis tritici* var. race 21), of the *Kenya farmer* variety of Wheat 351

P. MANSAT. — Variations in stem length and the reaching of a certain stage of development in herbage grasses 53

M. RIVES. — Vine seeds germination. Preliminary experiments 79

Georgette SANFOURCHE. — The pollinisation of varieties of sweet Cherry (*Prunus avium*) 223

R. WAGNER. — Progressive selection of variables using the Mahalanobis D^2 statistic. Application to the determination of the best discriminant function separating two seed populations of vine 159

Technical notes.

Annette HLADICK, E. BERNINGER. — Essay of cross-breeding techniques on Lettuce *Lactuca sativa* L 409

J. PICARD, J. BERTHAUT. — The fertility deficiency of autotetraploid red Clover 327

Préliminary note.

Georgette RISSER, P. MAS. — Putting obviousness of several races of *Fusarium oxysporum f. melonis* 405

Bibliographical note.

R. MONET. — Characters with simple genetic determination in *Prunus persica* STOKES 99

Bibliographical review.

G. SALESSES. — Male-sterility of Wheat 413

Book review 241
.......... 423

E. Rssaii, H. Cachon. — Preliminary studies on Barley for the improvement of colchicine treatments 69
F. Galloy, F. Dommergues. — Correlation between mutagenesis, organogenesis and precocity in Wheat. Preliminary investigations 333
C. Goujon. — Note on the heredity of the resistance of some varieties of soft wheat to *Erysiphe graminis* D.C. 437
H. Heslot. — Molecular mechanisms of mutagenesis and the nature of mutations 111
R. Jullian, J. Balthazard. — Influence of gibberelin on some varieties of *Vitis vinifera* L. 61
Nicole Maia, R. Lochard. — Monosomic analysis of the resistance to stem rust (*Puccinia graminis tritici* var. race 21), of the *Kenya farmer* variety of Wheat 224
P. Mansat. — Variations in stem length and the reaching of a certain stage of development in herbage grasses 53
M. Rives. — Vine seeds germination. Preliminary experiments 79
Georgette Saunier. — The pollinisation of varieties of sweet Cherry (*Prunus avium*) 345
R. Wagner. — Progressive selection of variables using the Mahalanobis D² statistic. Application to the determination of the best discriminant function separating two seed populations of vine 159

Technical notes.

Annette Hadrick, R. Bernhardt. — Essay of cross-breeding techniques on Lettuce *Lactuca sativa* L. 409
J. Picard, J. Berthaut. — The fertility deficiency of autotetraploid red Clover 347

Preliminary note.

Georgette Risser, P. Mas. — Putting obviousness of several races of *Fusarium oxysporum f. melonis* 425

Bibliographical revue.

R. Monet. — Characters with simple genetic determination in *Prunus persica* stocks 99

Bibliographical revue.

G. Sauzesse. — Male-sterility of Wheat 413
........ 141
........ 423

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 27, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire :* il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs,* précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; — *le nom de l'établissement,* dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *sommaire :* résumé suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction,* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé,* en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats,* à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion ;* f) *résumé* destiné à être traduit en anglais comportant une analyse *complète* de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques.*

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très *complet* placé en tête de l'article. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.) l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier auteur sera mentionné, suivi de : et *al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine, sauf si l'auteur étranger a sous-titré dans l'une des quatre langues mentionnées) ; le titre du périodique en abrégé selon la World List of Scientific Periodicals, ou le Bulletin Signalétique du C. N. R. S. ; le volume ; la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine); le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d' « Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit.

Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés *à l'état de projets,* leur exécution définitive étant confié au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : *soit* × 0,5. *soit* × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 16 × 12,5 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylogrophiées sur feuilles séparées et porter les numéros des figures.

Correction des épreuves : les auteurs recevront deux épreuves à corriger. Les corrections « d'auteur » ne sont autorisées que sur le premier jeu d'épreuves.

Envoi du manuscrit : M. MAYER, Centre national de Recherches agronomiques, Versailles (Seine-et-Oise), France. On demande deux exemplaires.